

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

LUÍS AMÉRICO DE BORBA

**COLORAÇÃO DE ESPOROS EM PELOS NA DERMATOFITOSE E
COMPARAÇÃO DE TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO**

**CURITIBA
2010**

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

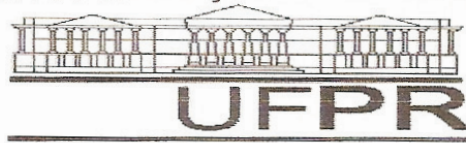
LUÍS AMÉRICO DE BORBA

**COLORAÇÃO DE ESPOROS EM PELOS NA DERMATOFITOSE E
COMPARAÇÃO DE TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Área de Concentração, Ciências Veterinárias, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Veterinárias.

Orientadora: Profa. Dra. Rosangela Locatelli
Dittrich

**CURITIBA
2010**



Ata da Defesa de Dissertação do Candidato ao Título de Mestre em Ciências Veterinárias, LUÍS AMÉRICO DE BORBA, área Ciências Veterinárias, do PPGCV realizada em 24.02.2010.

Às quatorze horas do dia vinte e quatro de fevereiro do ano dois mil e dez, no Anfiteatro do Hospital Veterinário do Setor de Ciências Agrárias da UFPR, reuniu-se a Comissão Examinadora constituída pelos seguintes membros Professora Dra. Rosângela Locatelli Dittrich, Professor Dr. Ricardo Guilherme D'Otávio de Castro Vilani e o professor Dr. Carlos Eduardo Larsson com a finalidade de arguir o mestrando **LUÍS AMÉRICO DE BORBA** candidato ao Título de Mestre em Ciências Veterinárias, área Ciências Veterinárias, que ofereceu para análise da Comissão a Dissertação intitulada **"COLORAÇÃO DE ESPOROS EM PELOS NA DERMATOFITOSE E COMPARAÇÃO DE TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO"**. Abertos os trabalhos o candidato, cumprindo determinação regimental, fez uma breve exposição oral a respeito de sua Dissertação. Terminada a exposição, a Presidente Professora Doutora Rosângela Locatelli Dittrich declarou aberta a arguição do candidato pelos membros da banca, finalizada pela própria Presidente. Concluída a arguição, a Comissão Examinadora reuniu-se para avaliar o Candidato. A Comissão Examinadora considerou que a Dissertação **APRESENTOU VALOR TÉCNICO-CIENTÍFICO ADEQUADO**.

Quanto à apresentação do Candidato durante a Defesa, a Comissão Examinadora...
AVALIOU MERITÓRIA.

Reabertos os trabalhos, de acordo com o Art. 79 da Resolução nº 65/09-CEPE, o candidato foi considerado APTO para obtenção do título de Mestre em Ciências Veterinárias, Área Ciências Veterinárias, encerrando os trabalhos da Defesa de Dissertação dos quais, eu, **RICARDO GUILHERME D. C. VILANI**, lavrei a presente Ata que vai por mim assinada _____ e por todos os Membros da Comissão Examinadora. Curitiba, 24 de fevereiro de 2010.

Professora Dra. Rosângela Locatelli Dittrich
Presidente/Orientadora

Professor Dr. Ricardo Guilherme D'Otávio de Castro Vilani
Membro

Professor Dr. Carlos Eduardo Larsson
Membro

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pelos desafios superados.

A minha esposa Evelin, por seu companheirismo, amor e compreensão.

A minha filha Isabella, pela sua existência servindo de inspiração a todos os momentos de minha vida.

A minha mãe, por ter me ensinado os valores nobres da vida e por me inspirar a ser cada dia melhor.

Ao meu pai (in memoriam), pela amizade e incentivo incondicional.

Aos meus sogros, pelo apoio em todos os momentos.

Ao professor Larsson pelo carinho de sempre, paciência e por todos os conhecimentos cedidos a mim e que foram primordiais na minha formação profissional.

À professora Rosângela, por toda paciência, dedicação, compreensão, ajuda, que me ofereceu ao longo destes dois anos de trabalho. Minha eterna amizade e admiração.

Ao professor Renato que me indicou a UFPR para que entrasse no mestrado, e também pelo apoio, e ajuda no desenvolvimento da coloração para realizar meu projeto.

A professora Regina Ramadinho por me apresentar a Dermatologia Veterinária.

Ao professor Ronaldo Lucas por me inspirar a fazer o melhor.

À Universidade Federal do Paraná, instituição de grande valor que me deu a oportunidade de aprendizado e de conquistar grande parte dos meus sonhos.

Ao Laboratório de Patologia Clínica Veterinária da UFPR, que disponibilizou todo aporte necessário para realizar meu projeto.

Aos colegas de mestrado que me ajudaram e colaboraram quando precisei, Lia e especialmente Olair.

Aos professores Geraldo e Fabiano pela co-orientação, sugestões e apoio.

Aos residentes do laboratório Kemy e Nina pelo apoio técnico preciso.

Ao professor Peterson pela preciosa ajuda na análise estatística.

RESUMO

A importância da dermatofitose na clínica de pequenos animais está no fato de ela ser uma doença muito lembrada pelos clínicos em uma consulta veterinária dermatológica, embora sua prevalência seja considerada baixa. Este fato se deve principalmente a falta de conhecimento técnico e de exames acessíveis ao clínico veterinário. Este estudo objetivou desenvolver a técnica de coloração para identificar, de maneira fácil, rápida e precisa, esporos de dermatófitos em pelos contaminados de animais de companhia. No período de abril de 2008 a dezembro de 2009, 21 meses, foram coletadas 144 amostras de pelos de 19 cães e cinco gatos que apresentavam dermatofitose. Para a triagem dos animais e diagnóstico de dermatofitose adotou-se a técnica considerada padrão-ouro, a cultura micológica, em meio seletivo DTM (Agar seletivo para dermatófitos). As colorações utilizadas foram PAS, Rosenfeld e Wright, e os exames micológicos direto foram com KOH 20% e com óleo mineral. Os animais eram de várias idades, qualquer dos sexos, e de diferentes raças. Dos 24 animais com dermatofitose, 23 (95,8%) foram positivos para *Microsporum canis* e um (4,2%) foi positivo para *Microsporum gypseum*. A alopecia e crostas foram as principais lesões nos animais com dermatofitose, sendo observadas em 100 % dos animais. O exame da Lâmpada de Wood foi positivo em 70,8% dos casos. As colorações foram mais sensíveis ao detectar esporos de dermatófitos nos pelos de animais com dermatofitose, PAS com 95,8%, Rosenfeld com 91,7% e Wright com 79,2% e os exames direto com KOH 58,3% e óleo mineral com 50%. Pelo teste de correlação de Spearman não ocorreu diferença estatisticamente significativa entre as técnicas de colorações comparadas, e ocorreu diferença estatisticamente significativa entre as técnicas de colorações e os exames micológicos direto, considerando o nível de significância de 5%. A utilização da técnica de coloração dos pelos permite antecipar um resultado positivo para dermatofitose na cultura fúngica e iniciar a terapia antifúngica de imediato.

Palavras chave: microsporose, fungo, micose, tinha, animais de companhia.

ABSTRACT

The importance of dermatophytosis in the clinic for small animals is the fact that it is a disease long remembered by a consulting veterinarian in clinical dermatology, although their prevalence is considered low. This fact is mainly due to lack of technical knowledge and clinical tests available to the veterinarian. This study aimed to develop a staining technique to identify, easily, quickly and accurately, spores of dermatophytes in the contaminated pet. From April 2008 to December 2009, 21 months, 144 samples were collected by 19 dogs and five cats had ringworm. For screening of animals and diagnosis of dermatophytosis adopted the technique the gold standard, the mycological culture on selective medium DTM (Dermatophyte Test Medium). PAS stains were used, Rosenfeld and Wright, and the direct mycological examinations were with 20% KOH and mineral oil. The animals were of various ages, either sex, and of different races. Of the 24 animals with dermatophytosis, 23 (95.8%) were positive for *Microsporum canis* and one (4.2%) was positive for *Microsporum gypseum*. Alopecia and crusting were the main lesions in the animals with dermatophytosis were observed in 100% of animals. The Wood's lamp examination was positive in 70.8% of cases. The stains were more sensitive to detect spores of dermatophytes in the animals with dermatophytosis, PAS with 95.8%, 91.7% with Rosenfeld and Wright with 79.2% and the direct examination with KOH and 58.3% mineral oil with 50%. By Spearman correlation test was not statistically significant difference between the techniques of staining compared, and there was a statistically significant difference between the techniques of staining and the direct mycological examinations, considering the significance level of 5%. Using the technique of staining of the possible to anticipate a positive fungal culture for dermatophytes and start antifungal therapy immediately.

Key words: microsporose, fungus, mycosis, *tinea*, had pets.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 01-	Macroconídeo de um dermatófito isolado no 8º dia da cultura micológica de <i>M. canis</i> , em DTM, corado com azul-algodão (1000 X).....	48
FIGURA 02-	Fluorescência na região facial ao exame da Lâmpada de Wood, em Cão da raça Yorkshire Terrier, macho, três anos, com dermatofitose por <i>M. canis</i>	52
FIGURA 03-	Cão da raça Yorkshire terrier, macho com dermatofitose por <i>M. canis</i> com alopecia, crostas, liquinificação e hiperpigmentação.....	53
FIGURA 04-	Pelo com dermatófito em óleo mineral e extensa massa de arthroconídeos ao redor dos pelos (seta) 1000 X.....	54
FIGURA 05-	Pelo com esporos eosinofílicos (intenso). Esporos isolados de amostras de pelo de cão com dermatofitose por <i>M. canis</i> . Coloração de PAS (1000 X).....	55
FIGURA 06-	Esporo esférico, de paredes lisas e com região central corada com maior intensidade (seta), próximo ao pelo. Esporo isolado de amostra de cão com dermatofitose por <i>M. gypseum</i> . Coloração de PAS em 1000X mais zoom digital.....	56
FIGURA 07-	Massa de esporos corados em azul (seta branca), ao redor do pelo, hifa corada em azul claro (seta preta). Pelo de cão com dermatofitose por <i>M. canis</i> . Coloração de Rosenfeld (1000 X).....	57
FIGURA 08-	Hifa septada de dermatófito (seta preta) em um pelo de cão por <i>M. gypseum</i> . Esporos ao redor do pelo, que foram pouco corados (seta branca) Coloração de PAS 1000 X.....	57

LISTA DE TABELAS

TABELA 01-	Resultado das colorações, exame direto e cultivo micótico. Distribuição quanto à espécie e características da cultura micológica.....	47
TABELA 02-	Distribuição sazonal de casos de dermatofitose canina e felina diagnosticados pelo cultivo micológico, atendidos na Clínica Veterinária Saúde Vet, Joinville-SC de Abril de 2008 a Dezembro de 2009	49
TABELA 03-	Topografia das localizações das lesões (nº e %) nos animais com dermatofitose.....	49
TABELA 04-	Anamnese e características das lesões dermatológicas de cães com dermatofitose.....	50
TABELA 05-	Anamnese e características das lesões dermatológicas de gatos com dermatofitose	51
TABELA 06-	Caracterização das lesões (nº e %) nos animais com dermatofitose.....	52
TABELA 07-	Sensibilidade dos exames realizados nos pelos dos animais positivos para dermatofitose, nas técnicas de coloração e exame micológico direto.....	54
TABELA 08-	Estudo comparativo das técnicas de coloração, em vermelho significa que houve diferença estatística, $p>0,05$. Teste de correlação de Spearman. Realizadas de Abril de 2008 a Dezembro de 2009 na Clínica Veterinária Saúde Vet, Joinville-SC.....	55

SUMÁRIO	
INTRODUÇÃO GERAL	11
OBJETIVOS.....	14
OBJETIVO GERAL.....	14
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	14
RESUMO.....	15
ABSTRACT.....	15
ASPECTOS CLÍNICOS, EPIDEMIOLÓGICOS, DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO DA DERMATOFITOSE- REVISÃO.....	16
AGENTE ETIOLÓGICO.....	16
PREVALÊNCIA.....	18
TRANSMISSÃO.....	19
QUADRO CLÍNICO DA DERMATOFITOSE.....	21
DIAGNÓSTICO.....	23
3.5.1 Exame com a Lâmpada de Wood.....	23
3.5.2 Colheita de Amostras.....	25
3.5.3 Exame Direto dos Pelos.....	25
3.5.4 Cultura Fúngica.....	26
3.5.5 Histopatológico de pele.....	27
3.6 TRATAMENTO.....	28
3.6.1 Tratamento Tópico.....	29
3.6.2 Tratamento Sistêmico.....	30
3.6.3 Vacinação.....	32
3.6.4 Descontaminação Ambiental.....	32
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	33
REFERÊNCIAS.....	35
CAPITULO I- COLORAÇÃO DE ESPOROS EM PELOS NA DERMATOFITOSE E COMPARAÇÃO DE TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO	38
RESUMO.....	38
ABSTRACT.....	39
1 INTRODUÇÃO.....	40
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	44
2.1 ANIMAIS.....	44

2.2 AMOSTRAS E DIAGNÓSTICO DE DERMATOFITOSE.....	44
2.3 EXAME DA LÂMPADA DE WOOD.....	45
2.4 EXAME DIRETO DOS PELOS.....	45
2.5 CULTURA MICOLÓGICA.....	45
2.6 CITOLOGIA DOS PELOS E COLORAÇÃO.....	46
2.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	46
RESULTADOS.....	46
DISCUSSÃO.....	58
CONCLUSÃO.....	62
REFERÊNCIAS.....	63
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	66
PERSPECTIVAS.....	67

1 INTRODUÇÃO GERAL

A dermatofitose é a doença fúngica mais comum na clínica veterinária de pequenos animais (BRILHANTE et al., 2003). É uma micose superficial dos tecidos queratinizados, tais como: pelos, unhas e extrato córneo da epiderme, sendo extremamente contagiosa e infecciosa e com alto potencial zoonótico (SCOTT et al., 2001; CAFARQUIA et al., 2004).

É causada pelas espécies de *Microsporum*, *Trichophyton* e *Epidermophyton*. Seus principais agentes são o *Microsporum canis*, *Microsporum gypseum* e *Trichophyton mentagrophytes* (FOIL, 1998; CARLOTTI & BESINGNOR, 1999; GROSS et al., 2005)

Os esporos do *M. canis* se espalham facilmente no ambiente, podendo permanecer viáveis por até 24 meses (CAFARQUIA et al., 2004).

Em cães e gatos o principal agente da dermatofitose é o *Microsporum canis*. A doença é comum na clínica de pequenos animais sendo responsável respectivamente por 92,6% e 100% das infecções dermatofíticas de cães e gatos (BRILHANTE et al., 2003).

Estima-se que 15% das dermatofitoses humanas são causadas por fungos zoofílicos, sendo o *Microsporum canis* o segundo agente etiológico mais frequente (ATES et al., 2008), e para MAZÓN et al., 1997; COSTA et al., 2002 o *M. canis* é o terceiro mais freqüente em humanos.

O diagnóstico da dermatofitose pode ocorrer de forma desmedida devido aos fatores como falta de veterinários especializados para realizarem consulta dermatológica, pouco conhecimento sobre a dermatopatia e escassez de laboratórios que ofereçam resultados confiáveis para a detecção e isolamento fúngico.

A dermatofitose tem apresentação clínica variável e similar com outras doenças de pele, como foliculite bacteriana e sarna demodécica (PETERS et al., 2007), sendo necessário a realização de exames complementares para confirmar seu diagnóstico e para instituir a terapia adequada para o indivíduo enfermo, diminuindo gastos desnecessários com tratamentos errôneos, o sofrimento do animal, a transmissibilidade e a contaminação ambiental.

A confirmação do diagnóstico é feita pela cultura micológica (GUILLOT et al., 2001; MORIELLO, 2004). Este é o ponto crítico na dermatofitose, pois há limitações de conhecimento das técnicas diagnósticas, exigindo do clínico veterinário treinamento e experiência para conduzir o processo de investigação com mínimas chances de diagnóstico equivocado.

Os exames com a Lâmpada de Wood e o exame direto dos pêlos constituem exames complementares importantes na triagem dos animais afetados por dermatofitose (MORIELLO & NEWBURY, 2006). Devem ser feitos cuidadosamente e de forma rotineira para que haja um aperfeiçoamento do clínico na interpretação de seus resultados, pois há muitas variáveis envolvidas em sua interpretação.

No exame com a Lâmpada de Wood a administração de alguns antibióticos pode levar a fornecer falsos-positivo, e no exame direto dos pelos e escamas muitos artefatos podem mimetizar os esporos fúngicos (SCOTT et al., 2001).

O exame citológico dos pelos corados poderia identificar precocemente os animais infectados por dermatofitose, entretanto há escassez de informações sobre a padronização de técnica de citologia para dermatofitose e inexistem informações sobre a correlação entre os exames clássicos para o diagnóstico da dermatofitose e a citologia dos pêlos infectados corados.

Este trabalho está dividido em duas partes, a primeira parte constitui-se

de revisão bibliográfica da dermatofitose, com aspectos clínicos, epidemiológicos, de diagnóstico e tratamento. Na segunda parte está descrito o experimento “coloração de esporos em pelos na dermatofitose e comparação de técnicas de diagnóstico”, apresentado sob a forma de capítulo.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver e padronizar uma técnica rápida e de fácil realização para o diagnóstico de dermatofitose.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 2.2.1. Realizar o diagnóstico de dermatofitose em cães e gatos pelas técnicas específicas e o método padrão “ouro”;
- 2.2.2. Realizar em paralelo o exame citológico dos pelos e pesquisa de esporos;
- 2.2.3. Determinar a sensibilidade do exame citológico dos pelos corados;

RESUMO

O objetivo deste artigo é revisar os aspectos mais importantes de dermatofitose, que é uma infecção de pele superestimada na medicina e medicina veterinária, por sua característica clínica polimórfica e dificuldades para isolar o agente causador. Esta dificuldade é sugerida devido a suspeita equivocada, colheita de amostras inadequadas e interpretações errôneas nos cultivos micológicos. A dermatofitose zoofílica por *Microsporum canis* tem aumentado sua incidência em todos os países no mundo. O gato portador assintomático é reconhecido como principal carreador dos esporos fúngicos de *M. canis*. Testes preliminares com a Lâmpada de Wood e exame microscópico direto fazem parte de ferramentas essenciais para a investigação de dermatofitose, fornecendo resultados prévios à cultura. A cultura micológica é reconhecida como padrão ouro no seu diagnóstico. Quanto antes for iniciado o tratamento, melhores serão os resultados e menores as chances de transmissão ao homem.

Palavras chave: cães, gatos, tinea, DTM, micose.

ABSTRACT

The aim of this paper is to review the most important aspects of dermatophytosis, which is a skin disease overestimated in medicine and veterinary medicine, by its characteristic clinical polymorphic and difficult to isolate the agent. In fact this difficulty is suggested starting with a suspected wrong, inadequate sampling and misconceptions in mycological cultures. The zoophilic dermatophytosis by *Microsporum canis* has increased its focus on all countries in the world. The cat asymptomatic carrier is recognized as the main carrier of the fungal spores of *M. canis*. Preliminary tests are part of essential tools for the investigation of dermatophytosis: Lamp Wood and direct microscopic examination, providing results prior to culture. The mycological culture is recognized as the gold standard in diagnosis. The sooner treatment is started, the better the results and lower the chances of transmission to humans.

Keywords: dogs, cats, *tinea*, DTM, ringworm.

3 ASPECTOS CLÍNICOS, EPIDEMIOLÓGICOS, DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO DA DERMATOFITOSE- REVISÃO

3.1 AGENTE ETIOLÓGICO

Dermatofitose é a doença fúngica mais comum na clínica veterinária de pequenos animais (BRILHANTE et al., 2003), que apresenta uma predileção ecológica, no que diz respeito à sua adaptação ao meio ambiente. Os dermatófitos podem ser divididos em três grandes grupos, em relação ao seu habitat, sendo classificados como antropofílicos, zoofílicos e geofílicos (COSTA et al., 2002).

Espécies antropofílicas infectam pessoas e, menos comumente, animais. Espécies zoofílicas são geralmente patogênicas para animais, mas são capazes de infectar pessoas. Espécies geofílicas habitam o solo que serve como uma fonte de infecção para animais e pessoas (MORIELLO, 2004). O conhecimento da origem do dermatófito, se zoofílico ou antropofílico, pode permitir a instalação de medidas profiláticas, tais como o tratamento de animais cujos donos podem desenvolver doença de pele (ROBERT e PIHET, 2008), e geofílico, identificar a fonte de solo contaminada.

Dermatófitos são eumicetos pertencentes à classe ascomicetos e com reprodução assexuada quando em laboratório (CHAMBASSE e PIHET, 2008).

Dermatofitose é uma infecção fúngica superficial dos pelos, pele e unhas. As espécies de *Microsporum* e *Trichophyton* causam a infecção nos animais. O *Microsporum canis* é o dermatófito mais comumente isolado de cães e gatos com ou sem lesões cutâneas (SCOTT et al., 2001; CAFARQUIA et al., 2006; MORIELO & NEWBURY, 2006; FOUST et al., 2007; NEWBURY et al., 2007).

Os esporos dos fungos são formados via segmentação e fragmentação da hifa fúngica. Esporos infectantes são depositados na superfície da pele ou pelame

do hospedeiro após contato com outro animal infectado ou via contato com um ambiente contaminado ou com fômites. Uma vez no pelame, os esporos devem atingir a pele e os folículos pilosos anagênicos para então estabelecer a infecção (SCOTT et al., 2001; MORIELLO & NEWBURY, 2006).

O pelo é invadido tanto nas infecções ectotrix, como nas endotrix. O fungo ectotrix produz massas de artrosporos na superfície das hastes do pêlo, e o endotrix se multiplica no interior da medula dos pêlos (SCOTT et al., 2001).

Os esporos devem competir com a microbiota normal, com efeitos fungicidas do material seduro-sebáceo da pele, e na remoção da umidade do pelame. Eles também podem soltar-se ou serem removidos pela lambedura higiênica do pelame. Em condições ótimas os esporos infectantes germinam após 6 horas da aderência aos queratinócitos. Os artrosporos aderem fortemente na queratina e na presença de queratinócitos produzem condições favoráveis para germinação (SCOTT et al., 1995; GUAGUÈRE & PRÉLAUD, 1999; MORIELLO & NEWBURY, 2006).

As hifas fúngicas invadem o óstio dos folículos pilosos, proliferam na superfície dos pêlos e migram para baixo, próximo ao bulbo do pelo, tempo em que o fungo produz suas próprias enzimas, as queratinazes, que permitem a penetração da cutícula do pêlo e crescem no interior da haste do pelo até a zona queratogênica ser atingida (SCOTT et al., 1995).

A resolução espontânea ocorre quando os pêlos infectados entram na fase telogênica porque os pêlos em fase telogênica cessam a produção de queratina, que é essencial para a sobrevivência e multiplicação do fungo (SCOTT et al., 2001).

Os esporos dos dermatófitos não podem penetrar em pele saudável, algum tipo de micro trauma é necessário para facilitar a infecção. Infecções experimentais têm sido estabelecidas com trauma equivalente ao da lambedura higiênica

(MORIELLO & NEWBURY, 2006).

No entanto, a lambedura higiênica dos gatos constitui também em um modo de defesa importante contra a infecção; de fato é difícil provocar uma infecção experimental nos gatos que se lambem no local da inoculação (GUAGUÈRE e PRÉLAUD, 1999).

3.2 PREVALÊNCIA

A prevalência das dermatofitoses varia de acordo com clima, temperatura, umidade relativa do ar e precipitação pluviométrica de chuva em diferentes regiões geográficas, bem como os reservatórios naturais (BRILANTE et al., 2003; CAFARQUIA et al., 2004).

A incidência real de dermatofitose em pequenos animais é baixa, contando apenas com 0,26% a 3,6% de uma rotina de atendimento dermatológico nos Estados Unidos (SCOTT et al, 1995). No Brasil é de 1,7% (BALDA et al., 2004). No entanto, a doença é super diagnosticada nos consultórios veterinários e geralmente confundida com doenças foliculares como foliculite bacteriana por *Staphylococcus intermedius* ou parasitária, por demodicidose (PETERS et al., 2007).

A prevalência da dermatofitose em animais com lesões de pele geralmente é mais elevada em gatos do que em cães, e o *Microsporum canis* é responsável por mais de 85% das lesões dermatofíticas dos felinos e 75% dos caninos (CAFARCHIA et al., 2006).

Humanos podem ser infectados e *Microsporum canis* é o dermatófito de caráter zoonótico mais frequente em áreas urbanas (CAFARQUIA et al., 2006). Cerca de 11% de todos os casos de dermatofitose (tinha capitis) em humanos são causados por *Microsporum canis* (MONZÓN de La TORRE, 2003), sendo que a

grande maioria é adquirida a partir do contato direto ou indireto dos gatos (CAFARQUIA et al., 2006).

3.3 TRANSMISSÃO

A transmissão de *Microsporium canis* ocorre via artrosporos infectados presentes no pelame dos cães e gatos ou no meio ambiente (CAFARQUIA et al., 2006; FOUST et al., 2007). Os esporos do *M. canis* se espalham facilmente no ambiente, podendo permanecer viáveis por até 24 meses (CAFARQUIA et al., 2004).

Dermatofitose é uma zoonose, provavelmente é a doença de pele zoonótica, apesar da prevalência baixa, mais comum de pequenos animais. Mais de 20 espécies diferentes de dermatófitos têm sido isolados em cães e gatos, mas alguns estudos mostram que os dermatófitos patogênicos não são isolados da microbiota normal do pelame dos animais (MORIELLO e NEWBURY, 2006).

Os esporos devem competir com a microbiota normal, com os efeitos fungicidas do material seduro-sebáceo. Eles também podem soltar-se ou serem removidos pela lambedura higiênica do pelame. Em condições ótimas, os esporos infectantes germinam após seis horas da aderência aos queratinócitos. Os artrosporos aderem fortemente na queratina, e na presença de queratinócitos produzem-se condições favoráveis para germinação (SCOTT et al., 1995; GUAGUÈRE & PRÉLAUD, 1999; MORIELLO e NEWBURY, 2006).

As hifas fúngicas invadem o óstio dos folículos pilosos, proliferam na superfície dos pelos e migram em direção ao bulbo do pelo; tempo em que o fungo produz suas próprias enzimas, as ceratinazes, que permitem a penetração da cutícula do pelo e crescem dentro da haste do pelo até a zona ceratogênica ser

atingida. A resolução espontânea ocorre quando os pelos infectados entram na fase telogênica, visto que os pêlos em fase telogênica cessam a produção de ceratina, que é essencial para a sobrevivência e multiplicação do fungo (SCOTT et al., 1995).

A infecção ocorre por meio da transmissão direta dos esporos infectantes para um hospedeiro susceptível. Os reservatórios da infecção tanto para as pessoas e os animais contaminados incluem ambientes e objetos, animais com infecções subclínicas ou clínicas, e os animais que são carreadores mecânicos de esporos em seu pelame (MORIELLO, 2004).

Eles são altamente contagiosos e facilmente transmissíveis ao homem (PEANO et al., 2005). A infecção por *Microsporum canis* está se tornando um sério problema epidemiológico na Europa. Para a sua solução será necessário, provavelmente, regras mais rigorosas no controle destas áreas, em particular um esforço integrado dos serviços de medicina e de medicina veterinária (SEEBACHER et al., 2008).

O gato assintomático é reconhecido como carreador dos esporos fúngicos e como maior fonte de infecção para outros animais e para os proprietários (CAFARQUIA et al., 2006). Os animais assintomáticos carregam *Microsporum canis* e são importantes na epidemiologia desta doença, pois 50% de humanos expostos a animais infectados sintomáticos e assintomáticos, especialmente gatos, podem tornar-se infectados (SCOTT et al., 2001; CAFARCHIA et al., 2006).

A dose mínima infectante é desconhecida, e as defesas naturais do hospedeiro e à suscetibilidade ao dermatófito são importantes na instalação da infecção (MANCIANTI et al., 2003). Fatores que favorecem a infecção incluem qualquer doença pré-existente que irá promover um aumento da umidade da superfície epidérmica. Em seguida um micro trauma na pele rompe a imunidade da

pele. Uma vez que um foco de infecção tenha sido estabelecido, as espécies fúngicas utilizam a queratina do pelo e da pele e estabelecem a infecção. A recuperação da infecção é dependente de uma resposta imune competente mediada por células (MORIELLO, 2004).

A mera exposição a esporos de dermatófitos não garante infecção. Uma quantidade 'crítica de massa' de esporos deve entrar em contato com um hospedeiro susceptível (MORIELLO, 2004). Os esporos devem escapar dos mecanismos de defesa que incluem remoção mecânica, competição com a microbiota bacteriana e fúngica natural, a exposição aos lipídeos da epiderme superficial que têm propriedades fungistáticas e a imunidade adquirida pelo hospedeiro (MORIELLO, 2004).

A germinação dos esporos é temperatura-dependente, com temperaturas elevadas favorecendo-a. A dermatofitose é mais comum em climas tropical e subtropical e temperado, nos meses quentes (MORIELLO & NEWBURY, 2006).

Além disso, o homem ou o animal podem ser portadores assintomáticos. Os fungos podem ser detectados esfregando o couro cabeludo ou cabelo, pelame ou pelos respectivamente com um pedaço de carpete estéril para identificar em cultura (ROBERT & PIHET, 2008).

3.4 QUADRO CLÍNICO DE DERMATOFITOSE

O aspecto clínico das dermatofitoses é muito variável e é resultante da combinação de destruição de queratina e da resposta inflamatória do hospedeiro (DEGREEF, 2008).

Dermatofitose é uma infecção comum dos tecidos queratinizados, pele, unhas e pelos, caracterizado pela alopecia multifocal, descamação e lesões circulares

(CAFARQUIA et al., 2006; MORIELO e NEWBURY, 2006; FOUST et al., 2007). A dermatofitose se caracteriza por ter um grande polimorfismo clínico, que justifica a inclusão do dermatófito dentro do diagnóstico diferencial de todas as dermatoses felinas, sobretudo aquelas que são contagiosas e se constituem em risco zoonótico em potencial (GUAGUÈRE e PRÉLAUD, 1999).

A dermatofitose não deve ser considerada como uma dermatose localizada, porque as lesões podem ser focais ou multifocais, mas os esporos estão presentes em toda parte dos pêlos do corpo do animal, tanto pela lambedura higiênica no gato como pelo contato normal dos animais com os esporos já disseminados no ambiente (SCOTT et al., 1995; GUARGUÈRE e PRÉLAUD, 1999; MORIELLO et al., 2004).

O quadro clínico mais comum é: alopecia, geralmente localizada e em forma anular; descamação furfurácea e ou farinácea, crostas melicéricas, pápulas e pústulas foliculares (SCOTT et al., 1995; GUAGUÈRE e PRÉLAUD, 1999; MORIELLO e NEWBURY, 2006; CAFARCHIA et al., 2006; FOUST et al., 2007). Os animais podem apresentar também prurido de grau variável, queda de pelos, eritema, alopecia simétrica ou assimétrica, distúrbio de queratinização, seborréia, hiperpigmentação e comedos. Em filhotes a apresentação clínica mais comum é descamação e alopecia na face, focinho, orelhas e na extremidade distal dos membros (SCOTT et al., 1995; MORIELLO & NEWBURY, 2006).

Nos cães, as lesões podem consistir de qualquer combinação de pápulas, pústulas, a ampla difusão de áreas focais de alopecia, graus variados de discromia, descamação e crostas (MORIELLO, 2004).

Os gatos podem, ainda, apresentar eritrodermia, crostas nas regiões mucocutâneas (lábios, orelhas e focinhos), seborréia localizada na cauda, acne na região mentoniana e Complexo granuloma eosinofílico (GUARGUÈRE e PRÉLAUD, 1999;

MORIELLO e NEWBURY, 2006).

A presença de quérion (lesões nodulares, tumefatas, vesico-bolhosas), particularmente na face, pode mimetizar áreas de piodermite profunda ou furunculose, ou mesmo doenças auto-imunes. Estas reações são comuns em infecções de *M. gypseum* e *Trichophyton spp* (MORIELLO, 2004).

O pseudomicetoma dermatofítico é uma infecção fúngica profunda, de apresentação rara em cães e gatos, que produz um processo piogranulomatoso, do tipo corpo estranho (PEREIRA et al, 2006).

Em pessoas costuma-se denominar a dermatofitose conforme a localização das lesões que segue: infecções da pele glabra (*tinea corporis*, *tinea cruris*, *tinea Faciei*), pele altamente queratinizada (palma das mãos, sola dos pés), pele rica em folículos pilosos (*Tinea capitis*, *Tinea barbae*) e infecções das unhas (DEGREEF, 2008).

3.5 DIAGNÓSTICO

O diagnóstico de dermatofitose deve ser realizado de forma criteriosa e completa, incluindo o histórico, anamnese do animal, quadro clínico, exame físico e dermatológico, exame com a lâmpada Wood e exames laboratoriais.

O quadro clínico está descritos no tópico 3.4 e os exames com a lâmpada de Wood, exame micológico direto dos pelos e cultura micótica em meio seletivo serão descritos neste tópico.

3.5.1. Exame com a Lâmpada de Wood

A Lâmpada de Wood é dotada uma luz ultravioleta filtrada com um filtro de cobalto ou níquel, é uma luz com um comprimento de onda de 3650 Å

(GUARGUÈRE e PRÉLAUD, 1999). O filtro é opaco para todas as luzes, exceto para uma faixa de 320 e 400 nm onde ocorre a fluorescência (CAFARQUIA et al., 2004).

O exame com a lâmpada de Wood é normalmente usado de modo rotineiro em uma consulta dermatológica veterinária, sobretudo naqueles animais com lesões e quadro clínico suspeitos (MORIELLO & NEWBURY, 2006). Ela é usada para observar a presença de triptofano, que são metabólitos dos fungos presente nas lesões, que fluorescem em uma cor verde-maçã quando expostas nesta luz dita negra (SCOTT et al., 1995; MORIELLO & NEWBURY, 2006).

A presença da fluorescência apenas indica a presença destes metabólitos ou de substâncias alteradas no pelo, sem provar a presença dos artrosporos. Deve-se tomar cuidado na interpretação deste exame, tal como realizar o exame em sala escura e aguardar alguns minutos para aquecer a lâmpada diminuindo erros em sua leitura (MORIELLO & NEWBURY, 2006). Animais que estão sob terapia com algumas drogas podem ter fluorescência positiva (como a doxiciclina, oxitetraciclina, tetraciclina e xampu de alcatrão) (SCOTT et al., 2001).

Cerca de 50% das infecções por *Microsporum canis* fluorescem, e tais pelos positivos à fluorescência devem ser escolhidos para serem feitas as culturas micóticas e o exame direto (SCOTT et al., 1995, GUARGUÈRE e PRÉLAUD, 1999; MORIELLO & NEWBURY, 2006).

A lâmpada negra à pilha deve ser evitada, pois seu potencial elétrico é muitas vezes insuficiente para alcançar o comprimento de onda necessário para promover a fluorescência.

3.5.2 Colheita de Amostras

O diagnóstico de dermatofitose exige amostras colhidas de maneira adequada. As amostras devem ser colhidas em quantidade suficiente e retiradas a partir da borda da zona infectada, o que corresponde à zona ativa da lesão. Além disso, é necessário lembrar que as amostras devem ser colhidas pelo próprio profissional ou por um pessoal experiente. Para melhorar a eficiência do exame micológico, amostras deveriam ser obtidas antes de qualquer tratamento antifúngico, local ou sistêmico, a qualidade das amostras clínicas é essencial para um diagnóstico acurado (ROBERT & PIHET, 2008).

3.5.3. Exame direto dos pelos

O exame direto dos pelos e escamas pode mostrar evidência dos esporos fúngicos em animais infectados por fungos dermatofíticos. O mais comum em pequenos animais é ter esporos ectotrix, porque a maioria das infecções de dermatófitos é por *Microsporum canis* (SCOTT et al., 1995). O exame direto dos pelos deve ser realizado com tempo, técnica e experiência (MORIELLO e NEWBURY, 2006). A sensibilidade do exame microscópico direto varia de 37% a 70% em cães e gatos; a sua especificidade na espécie humana, é avaliada em cerca de 60% (PEANO et al, 2005).

Para visualização dos esporos utiliza-se óleo mineral e agentes clareadores como KOH 10 a 20% acrescido ou não de DMSO (dimetilsufóxido), e também alguns corantes como Azul algodão e Tinta da China (GUARGUÈRE e PRÉLAUD, 1999; MORIELLO e NEWBURY, 2006).

O óleo mineral pode ser utilizado na maioria dos casos, e nesta técnica a experiência é fundamental. O uso do KOH tem por função clarear os pelos para

melhor visualizar os esporos. Nesta técnica recomenda-se aquecer o material suavemente por 15 a 20 segundos já com algumas gotas do KOH ou esperar de 20 a 30 minutos para então examinar o material ao microscópio de luz (SCOTT et al., 2001).

O Azul algodão e Tinta da China evidenciam os esporos fúngicos, destacando-os do restante do material examinado (GUARGUÈRE e PRÉLAUD, 1999). Cuidado especial deve ser dado ao realizar este exame direto, pois muitos artefatos podem induzir a um resultado falso-positivo. O treinamento com pêlos com artrosporos deve ser realizado até que o clínico domine a técnica (SCOTT et al., 1995; GUARGUÈRE e PRÉLAUD, 1999; MORIELLO e NEWBURY, 2006).

Exame direto dos pelos é essencial, já que permite que se inicie o tratamento, enquanto espera o resultado da cultura. Embora resultados falso-negativos tenham sido relatados em 5-15% dos casos, na prática rotineira, dependendo essencialmente da habilidade do observador e na qualidade das amostras, esta é uma técnica seletiva altamente eficiente (ROBERT & PIHET, 2008).

3.5.4. Cultura fúngica

A cultura fúngica é reconhecida como o método mais confiável e definitivo para confirmar o diagnóstico da dermatofitose, pois permite a identificação do gênero e espécie do dermatófito. O DTM (Agar seletivo para dermatófitos) é o meio de cultura mais utilizado em amostras de animais (GUARGUÈRE e PRÉLAUD, 1999; GUILLOT et al., 2001, MATOUSEK, 2004).

O DTM foi usado pela primeira vez pelos médicos no Vietnã para isolar os dermatófitos dos soldados (TAPLIN et al., 1969). Desde então o DTM tem sido aceito e adotado na micologia médica e vários produtos estão disponíveis na prática

veterinária. A formulação pode variar de acordo com a marca, mas todos DTMs contém substratos e substâncias para promover o crescimento dos dermatófitos, antibióticos seletivos para suprimir o crescimento da maior parte de fungos e bactérias contaminantes como: actidione e cloranfenicol respectivamente, e um indicador de pH, vermelho de fenol. Quando uma espécie de dermatófito é cultivado no DTM, este preferencialmente utiliza primeiramente os componentes proteicos que irão alcalinizar o pH. A cor muda do amarelo para o vermelho quando o meio é alcalinizado (a partir de pH 6,6), em média de 3 a 5 dias a uma temperatura de 24 a 27 ° C, e de 6 a 10 dias a uma temperatura de 18 a 21° C, ocorrendo simultaneamente com o aparecimento de crescimento de colônia. Fungos saprobióticos preferem usar carboidratos e não produzem pH alcalino antes do crescimento da colônia estar bem estabelecido (GUILLOT et al., 2001).

3.5.5 Histopatológico de Pele

A coloração dos cortes histológicos pode ser feita com hematoxilina e eosina, mas o Ácido Periódico de Schiff (PAS) é superior, evidencia artroconídeos e filamentos nos pelos e / ou queratina. Diagnóstico precoce pode ser estabelecido preparando-se cortes histopatológicos nos primeiros dias do início da infecção. Alterações histopatológicas mais comuns são: hiperqueratose, acantose e presença de escaras. Infiltração inflamatória pode ser discreta observada ao redor dos vasos sanguíneos e folículos pilosos (linfócitos, histiócitos, neutrófilos). Muitas vezes existe uma foliculite e / ou furunculose associada (CARLOTTI & PIN, 2002).

A biópsia da pele é útil no diagnóstico de infecções granulomatosas tipo quérion, pois culturas são muitas vezes negativas. O exame histopatológico de

fragmentos removido cirurgicamente de unhas pode ser o teste de escolha em casos de paroníquia fúngica, onicorrexe ou onicomadese (MORIELLO, 2004).

3.6 TRATAMENTO

Com a introdução da griseofulvina em 1958, tanto *M. audouinii* quanto o *T. schoenleinii* que foram os principais agentes causadores de microsporose em crianças tinha favosa respectivamente, tornaram-se praticamente erradicados da Europa Central (SEEBACHER, 2008).

A dermatofitose por *M.canis* em animais, se não tratada, geralmente há regressão, mas em alguns casos, a infecção pode durar meses a anos (MANCIANTI et al., 2003).

O tratamento recomendado pode variar, dependendo do gênero e da espécie do fungo isolado (MORIELLO, 2001); recomenda-se realizar o tratamento o mais rápido possível para resolução da infecção, para limitar a disseminação da infecção para outros animais e pessoas suscetíveis, e para minimizar a contaminação do meio ambiente (NEWBURY et al., 2007).

Os tratamentos tópicos são recomendados como adjuvante à terapia sistêmica e evitados como tratamento isolado (MORIELLO, 2004). Contudo, em fêmeas prenhes onde os antifúngicos sistêmicos são normalmente contra indicados pela teratogenicidade, o tratamento tópico deve ser a opção escolhida (CARLOTTI e PIN, 2001).

A tosa dos pelos pode ser realizada em animais de pelo longo com dermatofitose com infecções generalizadas, mas nenhum estudo controlado provou que cortar os pelos diminui o tempo de tratamento dos animais infectados (MORIELLO, 2004). A tosa não deve ser feita uma clínica veterinária, pois os

esporos liberados pelo procedimento contaminam todo ambiente e os pelos cortados devem ser incinerados (GUAGUÈRE & PRÉLAUD, 1999).

O tratamento é recomendado para rápida resolução, para limitar a disseminação da infecção para outros animais e pessoas suscetíveis, e para minimizar a contaminação do meio ambiente (NEWBURY et al., 2007).

A dermatofitose deve ser tratada com antifúngicos sistêmicos, e tópicos, estes em forma de xampus ou soluções, ungüentos, cremes e pomadas; em todos os casos confirmados, atenção especial deve ser dada a descontaminação do ambiente em que o animal infectado vive (SCOTT et al., 1995; GUAGUÈRE & PRÉLAUD, 1999; MORIELLO e NEWBURY, 2006).

3.6.1 TRATAMENTO TÓPICO

Para tratamento tópico geralmente são utilizados em forma de xampus a base de: miconazol, clorexidine, enilconazol e “Lime Sulfur”, sendo que os dois últimos não são comercializados no Brasil (GUAGUÈRE & PRÉLAUD, 1999; MORIELLO e NEWBURY, 2006).

MORIELLO, 2004 avaliou vários produtos tópicos, enilconazol 0,2%, clorexidine 2% combinado com miconazol 2%, miconazol 2% e clorexidine 2%, com dois banhos semanais por cinco a oito semanas. Os melhores resultados foram obtidos com enilconazol 0,2% e a combinação de miconazol 2% - clorexidine 2%. O miconazol 2 % foi melhor que o clorexidine 2 %, sendo que este não foi melhor quando comparado com placebo.

Em outro estudo foi sugerida a atividade esporocida da associação de miconazol 2% e clorexidine 2%, pois houve evidência da diminuição da contaminação ambiental controlada por culturas amostradas; neste estudo foi

associada ainda terapia sistêmica com griseofulvina (MORIELLO & VERBRUGGE, 2007).

3.6.2 TRATAMENTO SISTÊMICO

As principais drogas antifúngicas, de ação sistêmica, utilizadas em dermatofitose de pequenos animais são: griseofulvina, itraconazol, cetoconazol e terbinafina (SCOTT et al., 1995; GUAGUÈRE & PRÉLAUD, 1999; MORIELLO e NEWBURY, 2006).

A griseofulvina é um agente antifúngico que inibe a síntese de ácidos nucléicos e a metáfase da mitose celular, interferindo na função do eixo dos microtúbulos. A dose preconizada é de 50 mg/kg de peso ao dia, por 40 a 70 dias, e propicia 100% de cura dos animais tratados (MORIELLO, 2004). Há também a griseofulvina ultramicronizada que pode ser administrada em menor dosagem de 5 a 30 mg/kg ao dia. A griseofulvina é recomendada administrar junto a uma refeição contendo gordura para melhor absorção da droga. Efeitos colaterais por sobre os sistemas ou tecidos como: digestório, hepático, neurológico, sanguíneo (neutropenia) e de pele, são conhecidos, e também deve ser evitada em gestação pela alta teratogenicidade (CARLOTTI e PIN, 2001).

Itraconazol é um derivado triazólico que age alterando a permeabilidade da membrana celular fúngica por meio da inibição da síntese do ergosterol. Em baixa dose é fungistático e em alta, fungicida. A dose recomendada é 10 mg/kg por 56 dias. Pode ser empregada em pulsoterapia com eficiência semelhante, onde os animais são tratados por 28 dias consecutivos e após uma semana de descanso é retornado à terapia na semana seguinte, até 56 dias de tratamento (MORIELLO, 2004). Efeitos colaterais como náusea, anorexia e hepatotoxicidade foram observados

em gatos nas dosagens de 50 a 100mg/kg/dia, e que desapareceram após a interrupção da medicação (SCOTT et al., 1995).

Cetoconazol na dose de 10 mg/kg de peso ao dia tem uma eficiência em 66% a 97% dos casos tratados. Esta droga é também teratogênica e em felinos foram relatados vários efeitos colaterais como: anorexia, febre, depressão, êmese, diarreia, elevação das enzimas hepáticas, icterícia e sinais neurológicos (CARLOTTI e PIN, 2001).

Terbinafina é um antifúngico derivado da alilamina que suprime a biossíntese de ergosterol por meio da inibição da enzima fúngica esqualeno-epoxidase. A droga é considerada fungicida para *M. canis*. Duas dosagens de terbinafina são sugeridas, 8,5 mg/kg ao dia por 21 dias, e 30 mg/kg ao dia por 14 dias. Ambas resultaram em culturas negativas após 60 dias do início do tratamento. A droga é bem tolerada sendo observado apenas vômito como efeito colateral (MORIELLO, 2004). A terbinafina liga-se às proteínas plasmáticas queratinofílica e lipofílica, e persiste no estrato córneo, até três semanas após o tratamento (CARLOTTI e PIN, 2001). FOUST e colaboradores, 2007 testaram a concentração residual de terbinafina nos pelos de gatos. O estudo concluiu que nos animais tratados por 14 dias na dose de 34 - 45,7 mg/kg houve concentração da droga nos pelos até oito semanas após a interrupção da medicação.

A dermatofitose deve ser tratada com antifúngicos sistêmicos e tópicos em forma de xampus, em todos os casos confirmados, junto com a descontaminação do ambiente em que o animal infectado vive (GUARGUÈRE e PRÉLAUD, 1999, MORIELLO e NEWBURY, 2006).

3.6.3 VACINAÇÃO

Nenhuma vacina impediu a infecção ou promoveu uma cura mais rápida quando comparada com outros tratamentos ou com grupo controle não tratado. Contudo, a vacinação foi associada a uma ligeira redução da severidade da infecção inicial, quando comparada com os controles. A vacinação como um tratamento ou profilaxia continua a ser uma área de intenso interesse (MORIELLO, 2004).

3.6.4 DESCONTAMINAÇÃO AMBIENTAL

Os esporos do *M. canis* se espalham facilmente no ambiente, podendo permanecer viáveis por até 24 meses (CAFARQUIA et al., 2004).

A contaminação pode estar em qualquer superfície (móveis, plantas, vestuário, etc.). Além disso, estudos mostram que, em uma casa habitada por um gato com dermatofitose, pode ter até 1000 esporos *M. canis* por m³ de ar (CARLOTTI & PIN, 2002).

A descontaminação do ambiente em que um animal infectado vive durante o tratamento é sugerido por MORIELLO & NEWBURY, (2006). Os proprietários são orientados a limpar a residência duas vezes por semana utilizando o que estes autores chamaram de “técnica de limpeza tripla”: mecânica para remover os esporos e pelos com aspirador de pó, lavar e enxaguar três vezes com um detergente, e desinfetar as áreas em que o animal tem acesso com alvejante doméstico 1:10, a base de hipoclorito de sódio.

No “Pet Shop” cuidados com pentes, escovas, máquinas de tosa, camas, gaiolas, mesas, caixas de transporte e todo o ambiente em que o animal infectado teve contato deve ser devidamente desinfetado (SCOTT et al., 2001). Estes autores consideram um alto risco colocar os animais sabidamente infectados em um

ambiente que há alta rotatividade diária de animais, que é o caso dos estabelecimentos de banho e tosa, deste modo recomenda-se que os mesmos não sejam aceitos enquanto estiverem em tratamento, e ou com indícios de possível contágio.

Estudos que compararam a eficiência na desinfecção do ambiente contaminado demonstraram que o miconazol foi mais efetivo que o enilconazol e que “lime enxofre” (1:16). Clorexidine e iodo povidine têm se mostrado consistentemente ineficientes quando usados sozinhos na desinfecção do ambiente. Hipoclorito de sódio na diluição 1:10 tem resultados efetivos nos testes “*in vitro*”, porém não é recomendado seu uso para tratar animais, sendo mais recomendado só como desinfetante (MORIELLO, 2004).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A dermatofitose, apesar da baixa prevalência, é sempre lembrada em uma rotina de atendimento médico dermatológico e veterinário. Sua característica polimórfica de apresentação clínica confunde muito profissionais inexperientes e muitas vezes também os experientes. Pesquisadores ao redor do mundo se preocupam com a ascensão de certos fungos causadores de dermatofitose em humanos e animais. Há preocupação pelo fato de a maioria das cepas serem consideradas zoonóticas, medindo esforços em conjunto com os profissionais da área da saúde pública. A melhor maneira de diagnóstico continua sendo a cultura micológica, que estabelece o melhor tratamento e controle da doença. Contudo, exames prévios como lâmpada de Wood e exame microscópico direto são de extrema importância para ajudar a identificar melhor as suspeitas clínicas e instituir

rapidamente o tratamento, permitindo assim, o melhor controle da contaminação ambiental.

REFERÊNCIAS

- ATES, A.; ILKIT, M.; OZDEMIR, R.; OZCAN, K. Dermatophytes isolated from asymptomatic dogs in Adana, Turkey: A preliminary study. **Journal de Mycologie Médicale**, v. 18, p. 154-157, 2008.
- BALDA, A.C.; LARSSON, C.E.; OTSUKA, M.; GAMBALE, V. Estudo retrospectivo de casuística das dermatofitoses em cães e gatos atendidos no Serviço de Dermatologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 32(2), p. 133-140, 2004.
- BRILHANTE, R.S.N.; CAVALCANTE, C.S.P.; SOARES-JUNIOR, F.A.; CORDEIRO, R.A.; SIDRIN, J.J.C.; ROCHA, M.F.G. High rate of *Microsporum canis* feline and canine dermatophytoses in Northeast Brazil: Epidemiological and diagnostic features. **Mycopatologia**, v. 156, p. 303-308, 2003.
- CAFARCHIA, C.; ROMITO, D.; SASANELLI, M.; LIA, R.; CAPELLI, G.; OTRANTO, D. The epidemiology of canine and feline dermatophytoses in southern Italy. **Mycoses**, v. 47, p. 508-513, 2004.
- CAFARCHIA, C.; ROMITO, D.; CAPELLI, G.; GUILLOT, J.; OTRANTO, D. Isolation of *Microsporum canis* from the hair coat of pet dogs and cats belonging to owners diagnosed with *M. canis* tinea corporis. **Veterinary Dermatology**, v.17, p.327-331, 2006.
- CARLOTTI, D. N.; BESINGNOR, E. Dermatophytosis due *Microsporum persicolor* (13 cases) or *Microsporum gypseum* (20 cases) in dogs. **Veterinary Dermatology**, 10(1): 17-27, 1999.
- CARLOTTI, D.N.; PIN, D. Aspects cliniques et histopathologiques, diagnostic différentiel et traitements des dermatophytosis chez carnivores domestiques. **Annales de médecine vétérinaire**, v. 146, n° 2, p. 85-96, 2002.
- CHAMBASSE, D.; PIHET, M. Les dermatophytes : les diffi cultés du diagnostic mycologique. **Revue Francophone des Laboratoires**, v. 406, p. 29-38, 2008.
- COSTA, M.; PASSOS, X.S.; SOUZA, L.K.H.; MIRANDA, A.T.B.; LEMOS, J.A.; OLIVEIRA JUNIOR, J.G.; SILVA, M.R.R. Epidemiologia e etiologia das dermatofitoses em Goiânia, GO, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 35(1), p. 19-22, 2002.
- DEGREEF, H. Clinical Forms of Dermatophytosis (Ringworm Infection). **Mycopathologia**, v. 166, p. 257-265, 2008.
- FOIL, C.S. Dermatophytosis. In: GREENE, C.E, ed. **Infectious Diseases of the dog and cat**. Philadelphia: W.B. Saunders, 362-70, 1998.
- FOUST, A.L.; MARSELLA, R.; AKUCEWICH, L.H.; KUNKLE, G.; STERN, A.; MOATTARI, S.; SZABO, N. J. Evaluation of persistence of terbinafine in the hair of normal cats after 14 days of daily therapy. **Veterinary Dermatology**, v.18, p.246-251, 2007.

GROSS, T.L.; IHRKE, P.J.; WALDER, E.J.; AFFOLTER, V.K. Skin diseases of the dog and cat. **Clinical and histopathologic diagnosis**. 2nd ed. Blackwell, Oxford. 932p. 2005.

GUAGUÈRE, É.; PRÉLAUD, P. **Guia Practica de Dermatología Felina**. Merial., 1999.

GUILLOT, J.; LATIÉ, L.; DEVILLE, M.; HALOS, L.; CHERMETTE, R. Evaluation of the dermatophyte test medium RapidVet-D. **Veterinary Dermatology**. v.12, p.123-127, 2001.

MANCIANTI, F.; NARDONI, S.; CORAZZA, M.; ACHILLE, P.D'; PONTICELLI, C. Environmental detection of *Microsporum canis* arthrospores in the households of infected cats and dogs. **Journal of Feline Medicine and Surgery**. v. 5, p. 323-328, 2003.

MATOUSEK, J.L. Diseases of the ear pinna. **Veterinary Clinics Small Animal Practice**. Elsevier Saunders. V.2, 2004.

MAZÓN, A.; SALVO, S.; VIVES, R.; VALCAYO, A.; SABALZA, M.A. Estudio etiológico y epidemiológico de las dermatofitosis en Navarra (España). Revista Iberoamericana Micología. V. 14, p. 65-68, 1997.

MONZÓN DE LA TORRE, A.; CUENCA-ESTRELLA, M.; RODRIGUEZ-TUDELA, J.L. Estudio epidemiológico sobre las dermatofitosis en España (abril-junio 2001). **Enferm Infecc Microbiol Clin**. v. 21(9), p. 477-483, 2003.

MORIELO, K.A. Diagnostic Techniques for Dermatophytosis. **Clinical techniques in Small Animal Practice**. v. 16, p. 219-224, 2001.

MORIELO, K.A. Treatment of dermatophytosis in dogs and cats: review of published studies. **Veterinary Dermatology**. v. 15, p. 99-107, 2004.

MORIELO, K.A.; DEBOER, D.J.; VOLK, L.M.; SPARKES, A.; ROBINSON, A. Development of an *in vitro*, isolated, infected spore testing model for disinfectant testing of *Microsporum canis* isolates. **Veterinary Dermatology**. v. 15, p. 175-180, 2004.

MORIELLO, K.A.; NEWBURY, S.N. Recommendations for the Management and Treatment of Dermatophytosis in Animal Shelters. **Veterinary Clinics Small Animal Practice**. Elsevier Saunders. 2006.

MORIELO, K.A.; VERBRUGGE, M. Use of isolated spores to determine the sporocidal efficacy of two commercial antifungal rinses against *Microsporum canis*. **Veterinary Dermatology**. v. 18, p. 55-58, 2007.

NEWBURY, S.; MORIELLO, K.; VERBRUGGE, M.; THOMAS, C. Use of lime sulphur and itraconazole to treat shelter cats naturally infected with *Microsporum canis* in an annex facility: an open field trial. **Veterinary Dermatology**. v.18, p.324-331, 2007.

- PEANO, A.; RAMBOZZI, L.; GALLO, M. Development of an enzyme-linked immunosorbant assay (ELISA) for the serodiagnosis of canine dermatophytosis caused by *Microsporum canis*. **Veterinary Dermatology**. v. 16, p. 102-107, 2005.
- PEREIRA, N.P.; DAMICO, C.B.; SOUZA, H.J.M.de.; CORGOZINHO, K.B.; GRAÇA, G.; ALMEIDA, E.C.P.de.; FERREIRA, A.M.R. Pseudomicetoma Dermatofítico causado por *Microsporum canis* em gato da raça Persa. **Acta Scientiae Veterinariae**. v. 34(2), p. 193-196, 2006.
- PETERS, J.; SCOTT, D.W.; ERB, H.N.; MILLER Jr, W.H. Comparative analysis of canine dermatophytosis and superficial pemphigus for the prevalence of dermatophytes and acantolytic keratinocytes: a histopathological and clinical retrospective study. **Veterinary Dermatology**. v.18, p.234-240, 2007.
- ROBERT, R.; PIHET, M. Conventional Methods for the Diagnosis of Dermatophytosis. **Mycopathologia**. v. 166, p. 295-306, 2008.
- SEEBACHER, C.; BOUCHARA, J. F.; MIGNON, B. Updates on the Epidemiology of Dermatophyte Infections. **Mycopathologia**. v. 166, p. 335-352, 2008.
- SCOTT, D.W.; MILLER, W.H. GRIFFIN, C. E. **Dermatologia de Pequenos Animais**. 5. Ed. Philadelphia: Saunders, 1995. 1130 p.
- SCOTT, D.W.; MILLER, W.H. GRIFFIN, C. E. **Muller and Kirk's Small Animal Dermatology**. 6th ed. Philadelphia: Saunders, 2001.1528p.
- TAPLIN, D.; ZAIAS, N.; REBELL, G.; BLANK, H. Isolation and recognition of dermatophytes on a new medium (DTM). **Archives Dermatology**. v. 99, p. 203–209, 1969.

CAPÍTULO I

COLORAÇÃO DE ESPOROS EM PELOS NA DERMATOFITOSE E COMPARAÇÃO DE TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO

COLOURING IN SPORES BY THE DERMATOPHYTOSIS AND COMPARISON OF DIAGNOSTIC TECHNIQUES

RESUMO

Este estudo objetivou desenvolver a técnica de coloração para identificar, de maneira fácil, rápida e precisa, esporos de dermatófitos em pelos contaminados de animais de companhia. No período de abril de 2008 a dezembro de 2009, 21 meses, foram coletadas 144 amostras de pelos de 19 cães e cinco gatos que apresentavam dermatofitose. Para a triagem dos animais e diagnóstico de dermatofitose adotou-se a técnica considerada padrão ouro, a cultura micológica, em meio seletivo DTM (Agar seletivo para dermatófitos). As colorações utilizadas foram PAS, Rosenfeld e Wright, e os exames micológicos direto foram com KOH 20% e com óleo mineral. Os animais eram de várias idades, qualquer dos sexos, e de diferentes raças. Dos 24 animais com dermatofitose, 23 (95,8%) foram positivos para *Microsporum canis* e um (4,2%) foi positivo para *Microsporum gypseum*. A alopecia e crostas foram as principais lesões nos animais com dermatofitose, sendo observadas em 100 % dos animais. O exame da Lâmpada de Wood foi positivo em 70,8% dos casos. As colorações foram mais sensíveis ao detectar esporos de dermatófitos nos pelos de animais com dermatofitose, PAS com 95,8%, Rosenfeld com 91,7% e Wright com 79,2% e os exames direto com KOH 58,3% e óleo mineral com 50%. Pelo teste de correlação de Spearman não ocorreu diferença estatisticamente significativa entre as técnicas de colorações comparadas, e ocorreu diferença estatisticamente significativa entre as técnicas de colorações e os exames micológicos direto, considerando o nível de significância de 5%. A utilização da técnica de coloração dos pelos permite antecipar um resultado positivo para dermatofitose na cultura fúngica e iniciar a terapia antifúngica de imediato.

Palavras chave: microsporose, dermatomicose, fungo, micose, tinea.

ABSTRACT

This study aimed to develop a straining technique to identify easily, quickly and accurately spores of dermatophytes in the contaminated pet. In the period April 2008 to December 2009 were collected 144 samples of the 19 dogs and five cats with dermatophytosis. For the screening of animals and conclusive diagnosis of dermatophytosis adopted the technique considered the gold standard, the fungal culture in selective medium DTM (Dermatophyte Test Medium). The colors used were PAS, Rosenfeld, and Wright, and direct mycological examinations were with 20% KOH and mineral oil. The animals were of various ages, any gender, and different breed. Of the 24 animals with dermatophytosis, 23 (95.8%) were positive for *Microsporum canis* and one (4.2%) were positive for *Microsporum gypseum*. Alopecia and crusting was the main features lesion animals with dermatophytosis were observed in 100% of animals. Examination of Wood's lamp was positive in 70.8% of cases. The stains were more sensitive to detect spores of dermatophytes in the animals with ringworm, PAS with 95.8%, Rosenfeld with 91.7% and 79.2% with Wright and direct examination with KOH and 58.3% mineral oil with 50%. For the test correlation Spearman was not statistically significant difference between the techniques of staining compared, and statistically significant difference between the techniques of staining and mycological direct examinations, considering the significance level of 5%. Using the staining technique allows for the anticipated positive for ringworm fungal culture and start antifungal therapy immediately.

Keywords: microsporosis, dermatomycosis, fungus, ringworm, *tinea*.

1 INTRODUÇÃO

A dermatofitose é a infecção micótica de pele mais relatada no mundo, com custos em diagnóstico e tratamento em torno de U\$ 400 milhões (ARABATZIS, 2007). Dermatófitos são fungos patogênicos que invadem a camada externa da pele (*stratum corneum*) e tecidos queratinizados derivados da epiderme, causando infecções na pele, pelos e unhas (SCOTT et al., 2001; KAUFMAN, 2004; CAFARQUIA et al., 2006; MORIELO & NEWBURY, 2006; FOUST et al., 2007; NEWBURY et al., 2007).

O fungo zoofílico *Microsporum canis* é o principal agente causador da *Tinea capitis* (dermatofitose localizada no couro cabeludo em humanos) (MAZÓN et al., 1997; MONZÓN de la TORRE et al., 2003; SEEBACHER et al., 2008). É também o principal agente causador da dermatofitose em pequenos animais (BALDA et al., 2004; CAFARQUIA et al., 2006; VIANE et al., 2007).

Os cães podem ser portadores assintomáticos. O papel de animais portadores assintomáticos como carreadores é de extrema importância, mas o risco de o *Microsporum canis* ser transmitido para os proprietários é maior em gatos do que cães portadores assintomáticos (CAFARQUIA et al., 2006).

VIANI et al., (2007) demonstraram que existe diferença na produção de elastase entre cepas de *Microsporum canis* isolados de animais com e sem dermatofitose. Este fato pode ser indicativo de que a produção de enzimas como queratinase, elastase, lipase, DNase e collagenase influencia no aparecimento dos sinais clínicos da dermatofitose.

Em cães, observou-se maior predisposição racial para dermatofitose na raça Yorkshire Terrier e em gatos, na raça Persa (ABRAMO et al., 2001). Com relação à idade há uma marcante predisposição. Em levantamento de 76 animais com

dermatofitose 65,8% tinham idade menor que 12 meses (BALDA et al., 2004). Entretanto devemos incluir também animais velhos e debilitados tendo maior risco de se tornarem infectados (MORIELLO & NEWBURY, 2006).

A infecção da dermatofitose ocorre via transmissão direta dos esporos infectantes para o hospedeiro susceptível. Reservatórios da infecção para homens e animais incluem objetos e ambiente contaminado, animais com infecção clínica ou sub-clínica, e animais que servem como carreador mecânico dos esporos nos pelos (MORIELLO, 2004).

A dermatofitose em cães e gatos é essencialmente uma doença folicular e os sinais clínicos são apenas reflexo dos danos no folículo piloso e subsequente inflamação (MORIELLO, 2004).

É comum a piodermite superficial ser diagnosticada como dermatofitose. Dermatofitose, demodicidose, piodermite bacteriana podem ser clinicamente indistinguíveis em cães (MORIELLO, 2004), sendo necessária a realização de exames complementares para confirmar seu diagnóstico, principalmente para instituir a terapia adequada para o indivíduo enfermo, diminuindo assim os gastos desnecessários com tratamentos errôneos, sofrimento do animal, transmissibilidade e contaminação ambiental.

Um diagnóstico definitivo de infecção dermatofítica deve ser feito antes do início da terapia antifúngica devido à longa duração do tratamento e seu custo elevado, e os potenciais efeitos secundários dos medicamentos (ROBERT e PIHET, 2008).

Normalmente o diagnóstico padrão ouro é baseado na combinação de técnicas, como a visualização de estruturas fúngicas em exames diretos de amostras clínicas, associado à cultura e identificação das espécies (ARABATZIS,

2007).

A lâmpada de Wood é o exame clínico utilizado para identificar a fluorescência de cor verde-maçã, emitida pelos fungos devido à produção da enzima triptofano, em algumas cepas de *Microsporum canis* (em torno de 50%) (SCOTT et al., 2001). O exame deve ser realizado preferencialmente em sala escura, com a sobreposição da lâmpada negra, previamente aquecida, nas lesões (MORIELLO, 2001).

O exame direto dos pelos foi sensível em 64%, 51%, 53,2% na dermatofitose na Espanha, Brasil e Itália respectivamente (MONZÓN de la TORRE et al., 2003; BRASIL et al., 2003; CAFARQUIA et al., 2004). Pode ser feito com óleo mineral ou KOH e é um importante exame de triagem na dermatofitose, embora exija treinamento e experiência do analisador das amostras (BRASIL et al., 2003).

A coloração PAS, que cora polissacarídeos, como glicosaminoglicanos, pode ser adaptada ao exame direto das escamas epidérmicas (ROBERT e PIHET, 2008).

A confirmação do diagnóstico da dermatofitose é feita pela cultura micótica (GUILLOT et al., 2001; MORIELLO & NEWBURY, 2006). Este é o ponto crítico, pois há limitações de conhecimento das técnicas diagnósticas, exigindo do clínico veterinário treinamento e experiência para poder conduzir o processo de investigação com mínimas chances de diagnóstico equivocado.

O DTM é um meio de cultivo micótico que foi desenvolvido para realizar o diagnóstico de dermatofitose em soldados americanos durante a guerra do Vietnã. Neste estudo 1400 culturas de amostras de seres humanos, 97% puderam ser corretamente classificadas como positivas ou negativas para dermatófitos, exclusivamente pela mudança de coloração no Meio de Teste para Dermatófito (DTM). O crescimento do dermatófito no DTM é visualizado pela mudança de cor do

meio, de amarelo para vermelho, sendo diagnóstico presuntivo (TAPLIN et al., 1969).

Quando uma espécie de dermatófito é cultivada no DTM, este preferencialmente utiliza primeiramente os componentes proteicos que irão alcalinizar o pH. A cor muda do amarelo para o vermelho quando o meio é alcalinizado (a partir de pH 6,6), em média de 3 a 5 dias a uma temperatura de 24 a 27° C, e de 6 a 10 dias a uma temperatura de 18 a 21° C, ocorrendo simultaneamente com o aparecimento de crescimento de colônia. Fungos saprobióticos preferem usar carboidratos e não produzem pH alcalino antes do crescimento da colônia estar bem estabelecido (GUILLOT et al., 2001).

Vários trabalhos têm demonstrado que apenas uma pequena parcela das lesões suspeitas, de animais e homens, produz culturas positivas para fungos dermatófitos, como Croácia (8,5%), Brasil (18,1%), Portugal (18,1%), Itália (20,5%) e Espanha (20,8%) (MAZÓN et al., 1997; BRILHANTE et al., 2003; CAFARQUIA et al., 2004; BRAJAC et al., 2003; BERNARDO et al., 2005).

A dermatofitose é superestimada em dermatologia requerendo conhecimento e experiência na identificação, realização dos exames e confirmação do diagnóstico definitivo. Os procedimentos de diagnóstico e tratamento da dermatofitose podem ter custos elevados e desnecessários.

Este estudo objetivou desenvolver a técnica de coloração para identificar de maneira fácil, rápida e precisa esporos de dermatófitos em pelos contaminados de animais de companhia.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 ANIMAIS

No período de abril de 2008 a dezembro de 2009 foram coletadas 144 amostras de pelos de 19 cães e cinco gatos que apresentavam dermatofitose. As amostras foram obtidas de animais atendidos na rotina da Clínica Veterinária Saúde Vet localizada em Joinville, Santa Catarina.

Todos os animais apresentavam uma ou mais lesões que incluíram pápula, eritema, crosta, escama e alopecia.

Para a triagem dos animais e diagnóstico conclusivo de dermatofitose adotou-se a técnica considerada padrão ouro, a cultura micológica em meio seletivo DTM.

Os animais eram de várias idades, qualquer dos sexos, diferentes raças e provenientes de várias regiões de Joinville e cidades circunvizinhas. Todos os animais foram registrados em formulário individual contendo informações relevantes à pesquisa.

A sensibilidade de cada teste foi calculada considerando os resultados da cultura micológica como padrão-ouro. A sensibilidade é a probabilidade de um teste ser positivo, dado que exista a doença. Segundo a fórmula $S = VP / (VP + FN)$, onde S= sensibilidade, VP= valor positivo e FN= falso negativo.

2.2 AMOSTRAS E DIAGNÓSTICO DE DERMATOFITOSE

O diagnóstico de dermatofitose foi realizado pela observação do quadro clínico, cultura em meio seletivo, exame com a Lâmpada de Wood, exame direto e coloração de amostras de pelos.

As amostras de pelos foram obtidas por avulsão manual, quando da positividade à Lâmpada, guiada pela luz fosforescente verde-maçã, produzida pela exposição à radiação ultravioleta da Lâmpada de Wood, e quando negativa, ao redor da lesão.

Os pelos epilados foram utilizados na confecção das lâminas para as colorações, exames diretos, com óleo mineral ou KOH 20%, e para cultura micótica.

2.3 EXAME DA LÂMPADA DE WOOD

Em uma sala escura uma lâmpada negra de 26 Watts, 0,24 A, 50/60 Hz, ligada à corrente elétrica, foi pré-aquecida por 10 minutos e os animais foram, então, examinados para verificar a eventual presença de fluorescência nas lesões.

2.4 EXAME DIRETO DOS PELOS

Em uma lâmina de vidro foi colocado uma gota de óleo mineral, pelos e sobreposta lamínula e a avaliação ocorreu em seguida, no microscópio de luz. Com KOH 20%, houve uma espera de 15 minutos antes de examinar ao microscópio óptico (100 e 400 aumentos), visando clarificar os pelos.

2.5 CULTURA MICOLÓGICA

A cultura micológica foi realizada com *kit* comercial Dermatobac®, com Agar Sabouraud e actidione, vermelho de fenol e cloranfenicol, e avaliada diariamente.

As colônias observadas quando do crescimento no meio foram coletadas e colocadas em lâmina de vidro, acrescentando uma gota de Azul algodão e, finalmente, uma lamínula. O material foi examinado ao microscópio de luz, em aumento de 400X, para verificar a presença de macroconídeos e identificar o gênero e espécie

do dermatófito.

2.6 CITOLOGIA DOS PELOS E COLORAÇÃO

Uma fita adesiva de dupla face foi colada a uma lâmina de vidro, as amostras com pelos foram aderidas nela. As lâminas foram coradas com PAS (Ácido periódico de Schiff), Rosenfeld e Wright, conforme técnica padrão. Após a coloração, as lâminas secas foram examinadas ao microscópio óptico em aumento de 100, 400 e 1000X.

O ácido periódico utilizado foi o ácido-orto-periódico PA Reagem® 5%. O reagente de Schiff utilizado foi feito da seguinte maneira: 2 g de fucsina básica Reagen®, 100 ml de ácido clorídrico Merk®, 2 g de metabissulfito de sódio Reagen®, 4 g de carvão ativado Merk®.

O ácido periódico foi depositado por sobre a fita com os pelos e deixado por cinco minutos lavados em água destilada por imersão e após o reagente de Schiff foi depositado por sobre a fita com os pelos e deixando agir por 15 minutos após imergindo em água destilada por um a dois minutos.

2.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos pelos exames laboratoriais foram quantificados em percentagem e comparados pelo teste de correlação de Spearman, estabelecendo um nível de significância de 5%.

3 RESULTADOS

Dos 24 animais com dermatofitose, 23 (95,8%) foram positivos para *Microsporum canis* e um (4,2%) foi positivo para *Microsporum gypseum*. Os

resultados do cultivo foram obtidos pela observação dos macroconídeos em microscópio de luz (figura 01). A mudança de cor do meio da cultura micótica (DTM) ocorreu em média no 5º dia e a presença de macroconídeos dos dermatófitos variou do 4º ao 42º dia e a média foi no 10º dia (tabela 01).

Quanto ao tempo de evolução das lesões, nove (37,5%) apresentavam evolução de uma a duas semanas, nove (37,5%) tinham evolução de três a quatro semanas, quatro (16,7%) evolução de oito semanas e duas (8,3%) com 12 semanas de evolução (tabelas 02 e 03).

TABELA 01- Resultado das colorações, exame direto e cultivo micótico. Distribuição quanto à espécie e características da cultura micológica.

N	espécie	exame direto exames após coloração pilar					cultivo resultado cultura	Características da cultura micótica		
		óleo mineral	KOH 20%	Rosenfeld	Wright	PAS		Mudança de cor DTM	Macroconídeo identificado	T Média cultivo °C
1	Canino	+	+	+	+	+	<i>M. canis</i>	3º dia	8º dia	20,6
2	Canino	+	-	+	+	+	<i>M. canis</i>	4º dia	6º dia	21,2
3	Canino	-	-	+	+	+	<i>M. canis</i>	3º dia	8º dia	21,1
4	Canino	-	+	+	+	+	<i>M. canis</i>	8º dia	42º dia	19,2
5	Canino	+	-	+	-	+	<i>M. canis</i>	5º dia	9º dia	20,1
6	Canino	-	+	+	-	+	<i>M. canis</i>	5º dia	13º dia	19,7
7	Canino	+	+	+	+	+	<i>M. canis</i>	7º dia	13º dia	19,8
8	Felino	-	-	+	+	+	<i>M. canis</i>	5º dia	8º dia	19,7
9	Canino	-	+	+	+	+	<i>M. canis</i>	7º dia	14º dia	20,9
10	Felino	-	+	+	+	+	<i>M. canis</i>	5º dia	8º dia	20
11	Felino	-	+	+	+	+	<i>M. canis</i>	5º dia	8º dia	22,6
12	Canino	-	-	-	-	+	<i>M. gypseum</i>	6º dia	6º dia	21,6
13	Canino	-	+	+	+	+	<i>M. canis</i>	14º dia	21º dia	19,8
14	Canino	+	+	+	+	+	<i>M. canis</i>	5º dia	9º dia	19,9
15	Canino	+	+	+	+	+	<i>M. canis</i>	3º dia	4º dia	20
16	Felino	-	-	+	+	+	<i>M. canis</i>	8º dia	10º dia	18,2
17	Canino	+	+	+	+	+	<i>M. canis</i>	3º dia	4º dia	17,7
18	Canino	+	-	+	+	+	<i>M. canis</i>	4º dia	6º dia	19,8
19	Canino	+	-	+	+	+	<i>M. canis</i>	4º dia	5º dia	18,9
20	Canino	+	+	+	+	+	<i>M. canis</i>	5º dia	8º dia	24,3
21	Canino	+	+	+	+	+	<i>M. canis</i>	6º dia	7º dia	24,5
22	Canino	-	-	+	-	+	<i>M. canis</i>	5º dia	8º dia	24,9
23	Canino	+	+	+	+	+	<i>M. canis</i>	4º dia	10º dia	25,4
24	Felino	-	-	-	-	-	<i>M. canis</i>	5º dia	12º dia	25,3
Total		12	14	22	19	23	24	M=5,21	M=10,29	

M=média

Dos 24 animais, 19 (79,2%) eram cães e cinco (20,8%) eram gatos. Dos cães, oito (42,1%) eram da raça Yorkshire, três (15,8%) da raça Bulldog, dois (10,5%) da raça Labrador e um (5,3%) das distintas raças Shi tzu, Poodle, Dog Alemão, Pinscher, Chow-chow e SRD (tabela 02). Dos gatos, três (60%) eram da raça Persa, um (20%) da raça Siamesa e um (20%) era SRD (tabela 03).

O exame da lâmpada de Wood foi positivo (figura 02) em mais da metade (63,2%) dos casos caninos e em todos (100%) felinos. Quando computados todos os casos, a sensibilidade foi de 70,8% (tabelas 02 e 03).

FIGURA 01- Macroconídeo de um dermatófito isolado no 8º dia da cultura micológica de *M. canis*, em DTM, corado com Azul-algodão (1000X).



Com relação ao comprimento dos pelos 13 (54,2%) animais tinham pelagem longa e 11 (45,8%) pelagem curta. 12 (50%) eram fêmeas, e 12 (50%) eram

machos, 17 (70,8%) tinham idade de até um ano e sete (29,2%) tinham de dois a cinco anos, 14 (58,3%) tomavam banhos semanais, cinco (20,8%) tomavam banhos mensais e cinco (20,8%) não eram banhados com frequência.

Dos 24 casos, 17 (70,8%) deles não haviam contactantes sintomáticos. Cinco (20,8%) pessoas e dois (8,3%) cães adquiriram a infecção, sendo que quatro (80%) das pessoas infectadas adquiriram-na de Yorkshire e Persa (tabelas 02 e 03). Houve marcante predomínio dos casos de dermatofitose nas estações de outono e inverno, perfazendo um total de 70,8% de todos os casos atendidos (tabela 04).

TABELA 02- Distribuição sazonal de casos de dermatofitose canina e felina diagnosticados pelo cultivo micológico, atendidos na Clínica Veterinária Saúde Vet, Joinville-SC de Abril de 2008 a Dezembro de 2009.

Estação do ano	Nº	%
Outono	6	25,0
Inverno	11	45,8
Primavera	4	16,7
Verão	3	12,5

O prurido estava ausente em 10 (41,7%) e presente em 14 (58,3%) dos animais, destes somente três (12,5%) foi considerado de alta intensidade e 11 (45,8%) de baixa intensidade (tabela 02 e 03).

As lesões estavam assestadas no crânio, membros, tronco e em menor frequência abdômen, cauda e região cervical respectivamente (tabela 05).

TABELA 03- Topografia das lesões (nº e %) nos animais com dermatofitose.

Localização das lesões	N	%
Crânio	24	100,0%
Membros	22	91,6%
Tronco	16	66,7%
Abdômen	8	33,3%
Cauda	5	20,8%
Cervical	2	8,3%

TABELA 04- Características dos casos caninos de dermatofitose segundo a resenha, tempo de evolução em semanas, tipo e topografia lesional, presença e intensidade do prurido, resultado de exame pela Lâmpada de Wood, transmissibilidade a contactantes, tipo de manejo higiênico. Clínica veterinária Saúde Vet Joinville (SC), Abril de 2008- Dezembro de 2009.

N	Definição	Idade(m)	Comprimento	Evolução Lesões (sem)	Sinais dermatológicos (lesões)	Localização das lesões	Intensidade		Contactantes	Banhos	
							prurido	de Wood		frequência	local
1	Shitzu	4, F	longa	12	CR, ESC, AL, tipo RAR, PIL	MT, CD	7	+	sim/Humanos	semanal	pet shop
2	Yorkshire	9, F	longa	4	CR, ESC, AL, AN.	MP	4	+	não	semanal	pet shop/res.
3	Yorkshire	4, F	Longa	8	CR, ESC, AL, AN, GEN.	MT, MP, CB, OR e AB	4	+	não	semanal	pet shop
4	Yorkshire	60, F	longa	4	CR, ESC, AL, tipo RAR, PIL, c/ MÚLT LES	MT e TR	0	-	não	semanal	pet shop
5	Bulldog	12, F	curta	3	CR, AL, AN.	MP e AB	0	-	não	semanal	pet shop
6	Yorkshire	60, M	longa	12	CR, ES, AL, AN, GEN, ER.	TR e CB	9	+	sim/Cão	semanal	pet shop/res.
7	Poodle	24, F	longa	1	CR, AL, AN, c/ MÚLT LES, ER.	MT e TR	7	-	não	semanal	pet shop
9	Bulldog	6, F	curta	4	CR, AL, AN.	PÇ	0	+	não	semanal	res.
12	Dog Alemão	6, M	curta	1	CR, AL, AN., ER, PÁP	MT, MP, TR, AB e FO	0	-	não	mensal	res.
13	Labrador	72, F	curta	2	CR, ESC, AL, AN., ER	MT e CB	0	-	não	mensal	pet shop
14	Yorkshire	1,5, M	longa	2	CR, ESC, AL, AN, GEN.	TR, CB e OR	1	+	sim/Cão	s/banho	pet shop
15	Yorkshire	8, F	longa	8	CR, ESC, AL, tipo RAR, PIL/ GEN, ER	MT, MP, TR, CB, OR, CD e AB	3	+	sim/Humanos	semanal	pet shop
17	Yorkshire	6, M	longa	4	CR, ESC, AL, AN. e ER.	TR, CB e OR	4	+	sim/Humanos	semanal	pet shop
18	Labrador	24, M	curta	8	CR, AL, AN, c/ MÚLT. LES.	MP, TR e CB	0	+	não	mensal	res.
19	SRD	12, M	curta	3	CR, ESC, AL, AN c/ MÚLT LES.	MT, TR e CB	5	+	não	semanal	pet shop
20	Yorkshire	36, M	longa	4	CR, ESC, AL, GEN., LIQ, HIP.	GEN	4	+	não	semanal	res.
21	Pinscher	48, M	curta	3	CR, AL, AN. c/ MÚLT LES	MT, TR, CB e OR	0	-	não	semanal	pet shop
22	Chow-chow	3, M	longa	3	CR, ESC, AL, AN. c/ MÚLT LES	TR e AB	5	-	não	semanal	res.
23	Bulldog	1, M	curta	2	CR, AL, AN.	MT	0	+	não	s/banho	s/banho

N=número da ficha do animal, M=macho, F=fêmea, m=mês (ES), sem=semanas, res.=residência, CR=crosta, ESC=escama, AL=alopecia, AL, AN=alopecia anular, RAR. PIL=rarefação pilosa, MÚLT. LES=múltiplas lesões, GEN=generalizada, ER=eritema, PÁP=pápula, LIQ=liquificação, HIP=hiperpigmentação, MT=membro torácico, MP=membro pélvico, CD=cauda, CB=cabeça, OR=orelha, AB=abdômen, FO=focinho, TR=tronco e PÇ=pescoço.

TABELA 05- Características dos casos felinos de dermatofitose segundo a resenha, tempo de evolução em semanas, tipo e topografia lesional, presença e intensidade do prurido, resultado de exame pela Lâmpada de Wood, transmissibilidade a contactantes, tipo de manejo higiênico. Clínica veterinária Saúde Vet Joinville (SC), Abril de 2008- Dezembro de 2009.

N	Definição racial	Idade (m), sexo	Comprimento pelagem	Evolução lesões (sem)	Sinais dermatológicos (lesões)	Localização das lesões	Intensidade prurido	Lâmpada de Wood		Contactantes infectados		Banhos	
												frequência	local
8	Persa	6, F	longa	8	CR, AL,AN e tipo RAR,PIL/GEN.	MT, MP, TR, CB, OR, CD e AB	5	+	+	sim/Humanos	mensal		pet shop
10	Persa	2, F	longa	1	CR, DESC, AL,AN. tipo RAR,PIL/GEN.	MT, MP, TR, CB, OR, CD e AB	3		+	não	s/banho		s/banho
11	Persa	2, F	longa	2	CR, DESC, AL,AN.	OR e FO	0		+	sim/Humanos	s/banho		s/banho
16	Siamês	2, M	curta	2	CR, AL,AN.	TR	0		+	não	s/banho		s/banho
24	SRD	10, M	curta	1	CR, AL,AN.	CB	4		+	não	mensal		residência

N=número, M=macho, F=fêmea, ms=meses, sem=semanas, CR=crostas, DESC= descamação, AL=alopecia, AL,AN=alopecia anular, RAR,PIL=rarefação pilosa, GEN=generalizada, MT=membro torácico, MP=membro pélvico, CD=cauda, CB=cabeça, OR=orelha, AB=abdômen, FO=focinho e TR=tronco.

FIGURA 02- Fluorescência ao exame pela Lâmpada de Wood na região facial, em cão da raça Yorkshire Terrier, macho, 3 anos, com dermatofitose por *M. canis*.



A alopecia e crostas foram as lesões mais observadas nos animais com dermatofitose, sendo observadas em 100 % dos animais. A escama foi observada em pouco mais da metade dos casos (54,2%), e eritema e pápula em apenas uma pequena parcela dos animais. A queratose e hiperpigmentação (figura 03) foram observadas em apenas um animal (tabela 06).

TABELA 06- Caracterização das lesões (nº e %) nos animais com dermatofitose.

Lesões	N	%
Alopecia	24	100%
Crostas*	24	100%
Escama	13	54,2%
Eritema	4	16,7%
Pápula	3	12,5%
Queratose	1	4,2%
Hiperpigmentação	1	4,2%

*Melicérica

A alopecia mais comum em dermatofitose dos animais deste estudo foi o tipo anular que foi observado em 20 (83,3%) animais e a rarefação pilosa em cinco (20,8%) animais.

FIGURA 03- Cão da raça Yorkshire terrier, macho com dermatofitose por *M.canis* com alopecia, crostas, queratose e hiperpigmentação. Foto realizada em Novembro de 2009 na clínica veterinária Saúde Vet, Joinville-SC.



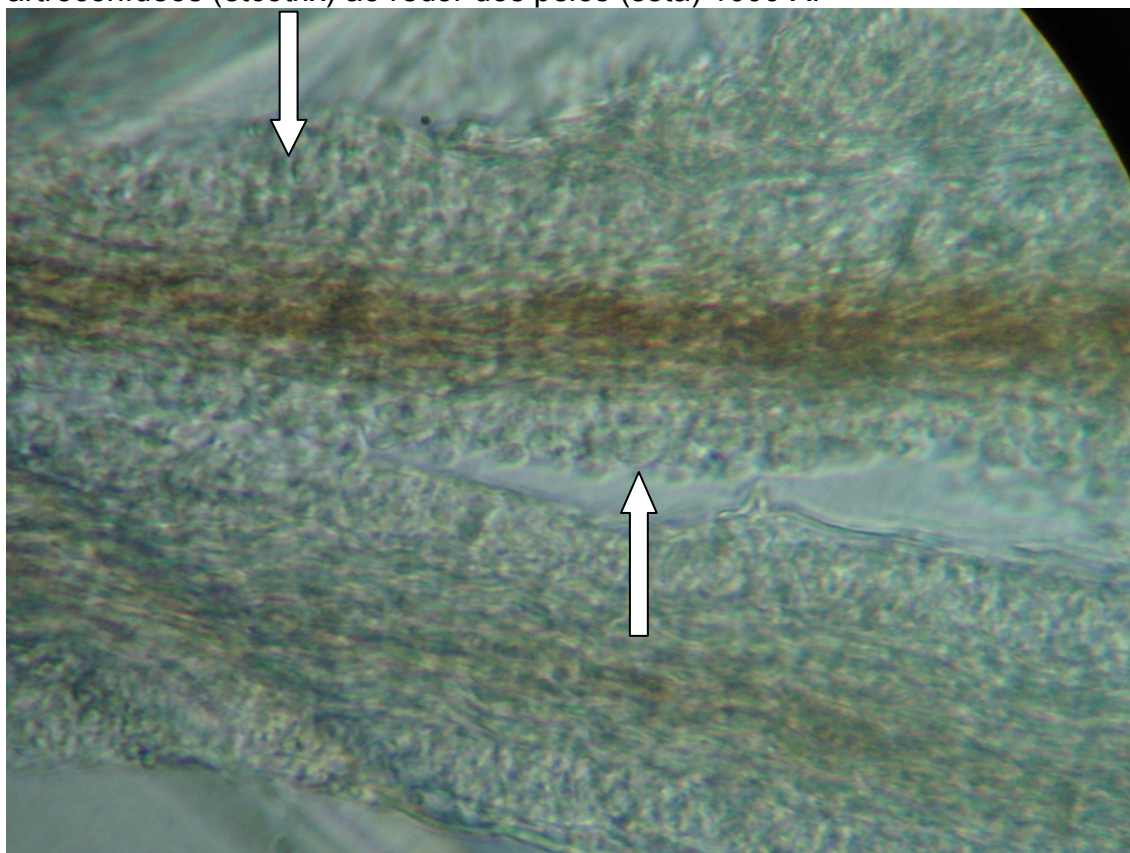
A massa de artroconídeos dispunha-se ao redor dos pelos e os esporos são visualizados agrupados (figura 04).

As colorações foram mais sensíveis ao detectar esporos de dermatófitos nos pelos de animais com dermatofitose (tabela 07).

TABELA 07- Sensibilidade dos exames realizados nos pelos dos animais positivos para dermatofitose, segundo nas técnicas de coloração e exame micológico direto.

Exame direto dos pelos	Colorações	Sensibilidade
	PAS	95,8%
	Rosenfeld	91,7%
	Wright	79,2%
KOH 20%		58,3%
Óleo mineral		50,0%

FIGURA 04- Pelo com dermatófito em óleo mineral e extensa massa de artroconídeos (etcotrix) ao redor dos pelos (seta) 1000 X.



A sensibilidade das técnicas variou de 50% a 95,83%.

Não ocorreu diferença estatisticamente significativa entre as técnicas de colorações comparadas, pois o valor de “p” foi menor que 0,05. Ocorreu diferença estatisticamente significativa entre os resultados obtidos entre as técnicas de colorações, os exames de KOH 20% e óleo mineral, neste caso o valor de “p” foi maior que 0,05, considerando o nível de significância de 5% (tabela 08).

FIGURA 05- Pelo com esporos eosinofílicos (intenso). Esporos isolados de amostras de pelo de cão com dermatofitose por *M. canis*. Coloração de PAS (1000X).

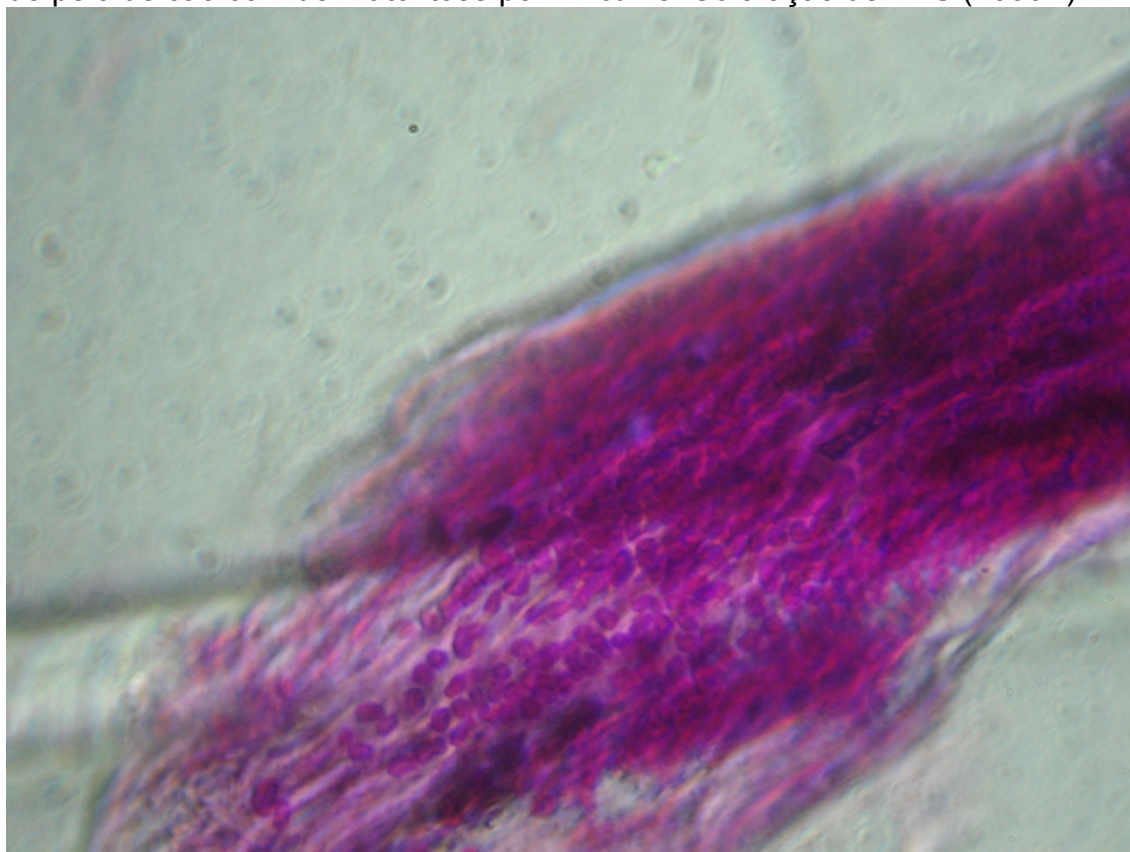
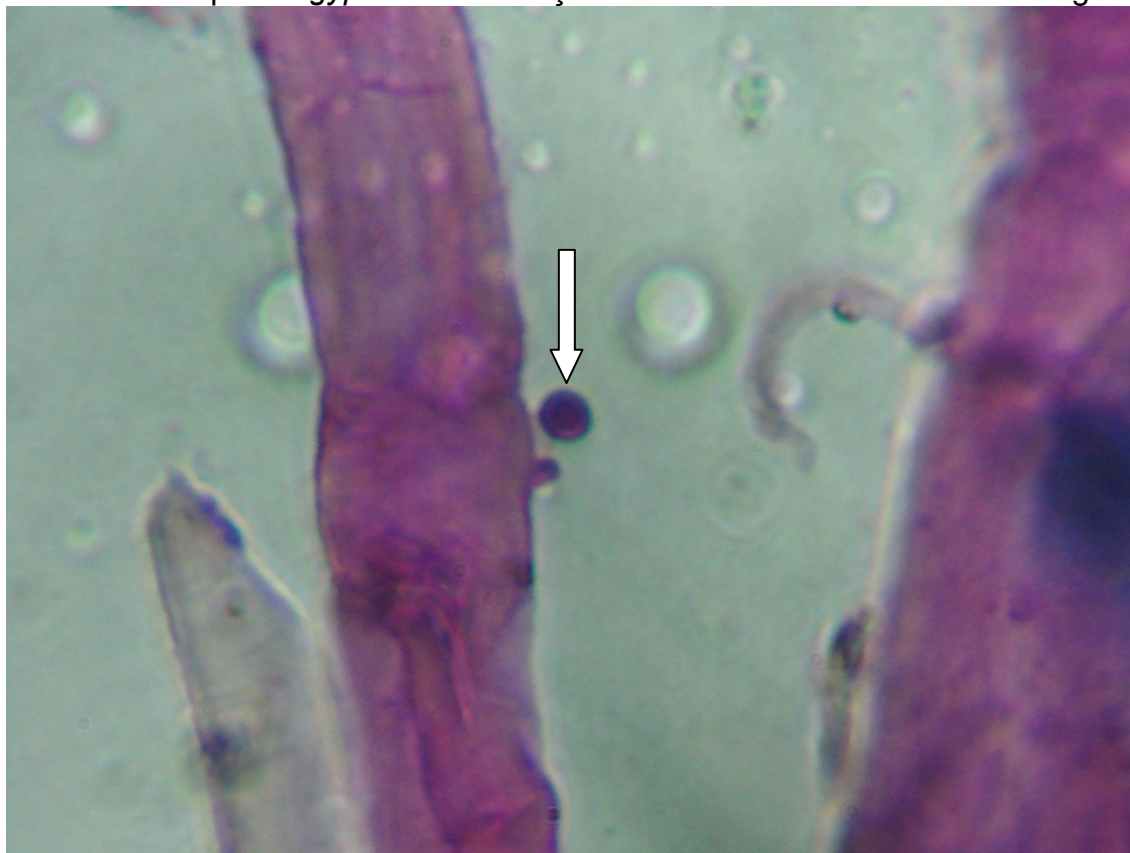


TABELA 08- Estudo comparativo das técnicas de coloração, em vermelho significa que houve diferença estatística, $p > 0,05$. Teste de correlação de Spearman. Realizadas de Abril de 2008 a Dezembro de 2009 na clínica veterinária Saúde Vet, Joinville-SC.

	PAS	Rosenfeld	Wright	KOH 20%	Óleo mineral
PAS		0,0002	0,0487	0,2451	0,3282
Rosenfeld	0,0002		0,0025	0,0870	0,1522
Wright	0,0487	0,0025		0,0535	0,1434
KoK 20%	0,2451	0,0870	0,0535		0,4298
óleo mineral	0,3282	0,1522	0,1434	0,4298	

As colorações propiciaram melhor resultado quanto à pesquisa de esporos de dermatófitos, segundo o teste de correlação de Spearman, frente ao cultivo micológico com nível de significância de 5%.

FIGURA 06- Esporo esférico, de paredes lisas e com região central corada com maior intensidade (seta), próximo ao pelo. Esporo isolado de amostra de cão com dermatofitose por *M. gypseum*. Coloração de PAS em 1000X mais zoom digital.



A coloração de Rosenfeld foi mais sensível que Wright em 12,5% dos casos. Na coloração de Wright, em alguns casos, a tonalidade do azul aparecia em excesso e impregnava demasiadamente os pelos, dificultando a identificação dos esporos e resultando em falso-negativo.

No animal N. 12 (tabela 01), a quantidade de esporos observados foi pequena e o único corante que permitiu identificar os esporos fúngicos foi o PAS. Apenas este animal foi aquele que teve a cultura micológica positiva para *Microsporum gypseum*. Nas outras técnicas de diagnóstico realizadas com a amostra de pelo deste animal os resultados foram negativos

Os pelos de animais com dermatofitose apresentaram uma grande quantidade de esporos corados, de fácil visualização e identificação (figura 05 e 07).

FIGURA 07- Massa de esporos corados em azul (seta branca), ao redor do pelo, hifa corada em azul claro (seta preta). Pelo de cão com microsporíase por (*M. canis*.) Coloração de Rosenfeld (1000X).

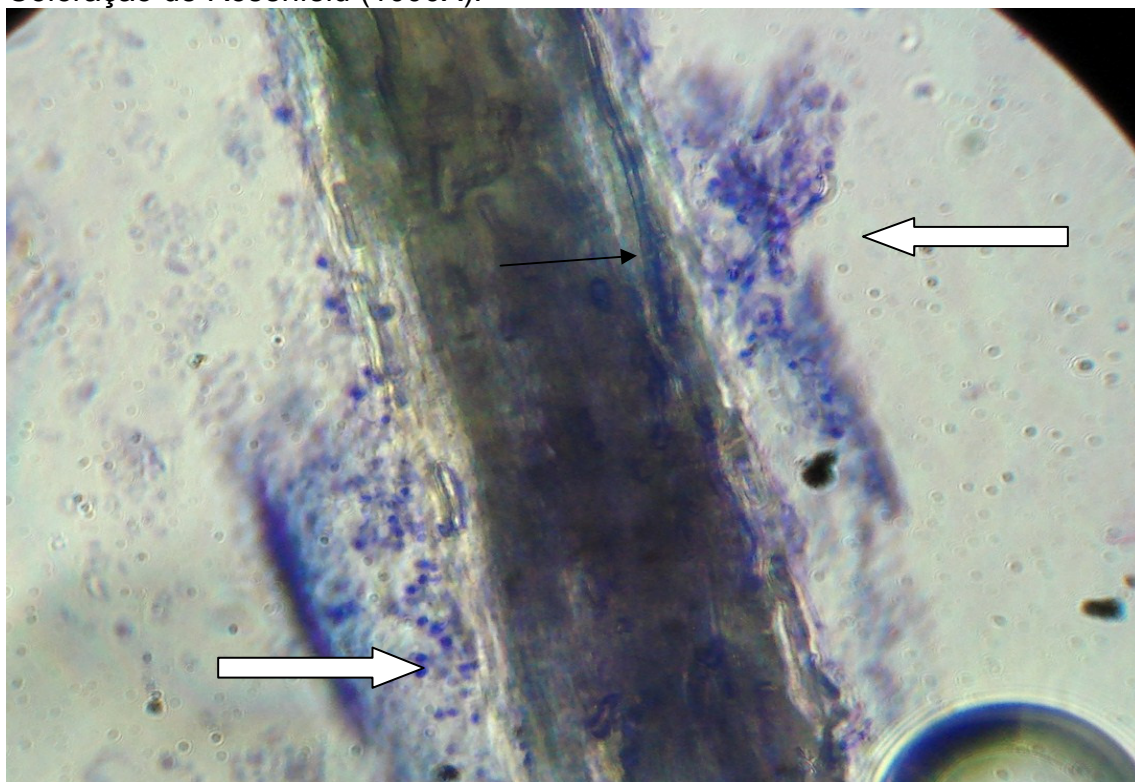
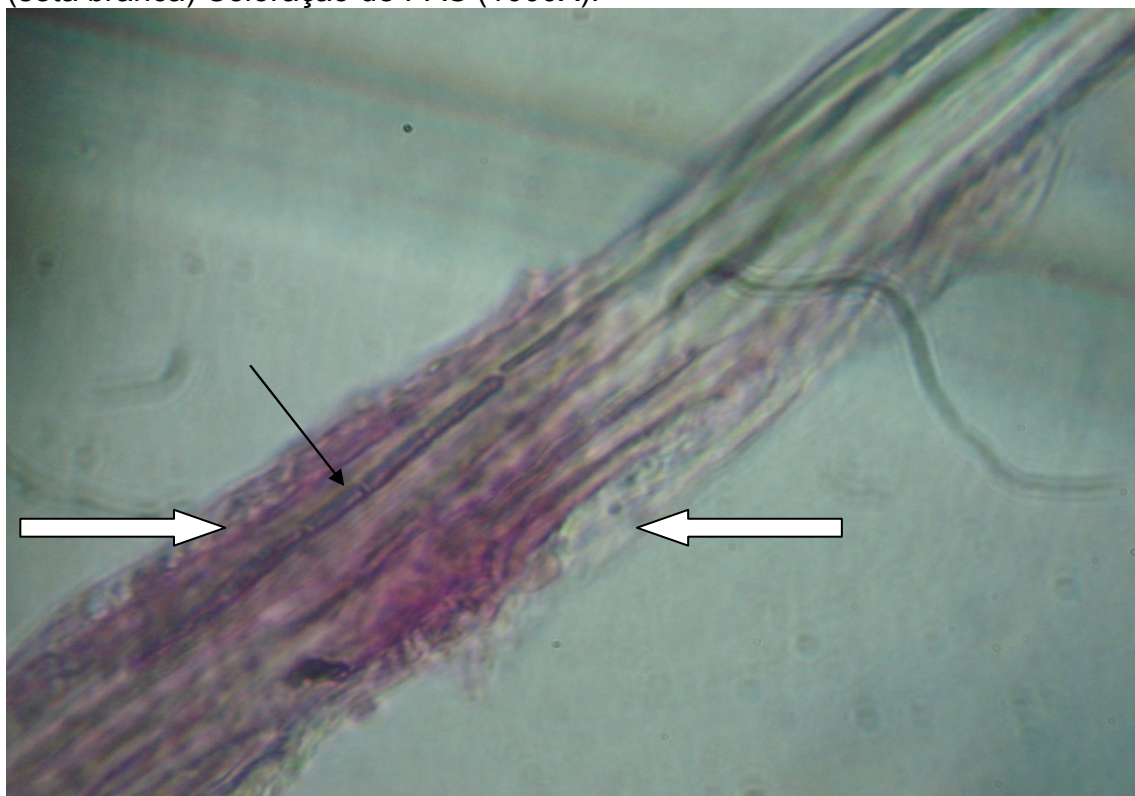


FIGURA 08- Hifa septada de dermatófito (seta preta) em um pelo de cão com microsporíase (*M. gypseum*). Esporos ao redor do pelo, que foram pouco corados (seta branca) Coloração de PAS (1000X).



Nos pelos corados foram observadas algumas vezes as hifas fúngicas (figura 07 e 08).

4 DISCUSSÃO

No exame de coloração observaram-se os esporos próximos aos pelos. Nos pelos afetados a massa de artroconídeos fica próxima a raiz do pelo, normalmente os pelos não são totalmente infectados pelo fungo. As estruturas puderam ser observadas nas formas esféricas ou alongadas, variando bastante no tamanho e forma.

A coloração de PAS corou os esporos na cor eosinofílica leve a intensa. Visualizou-se a massa de artroconídeos e os esporos, e entre os esporos não houve impregnação do corante, deste modo tivemos uma boa visualização e diferenciação de outras estruturas (figura 05).

Os esporos isolados o corante impregnou melhor na porção central, sugerindo que a porção externa menos corada, seja uma cápsula espessa (figura 06). Esta mesma característica foi observada nas colorações de Rosenfeld e Wright. Na técnica de PAS a visualização da cápsula foi melhor em relação às demais técnicas.

A maioria dos animais (95,7%) com dermatofitose, deste estudo, teve *M. canis* como agente-etiológico, resultado que corrobora com vários trabalhos pesquisados (LARSSON et al., 1997; MANCIANTI et al., 2003; BRILANTE et al., 2003; BALDA et al., 2004; MORIELLO et al., 2004; BERNARDO et al., 2005; CAFARQUIA et al., 2006; VIANE et al., 2007).

A mudança de cor no DTM ocorreu, em média, no 5º dia, com variações da temperatura do cultivo entre 18 a 25°C. Dados semelhantes foram obtidos por outro autor, pois a mudança de cor do meio ocorreu entre o 3º e 10º dia, com variações do

intervalo térmico entre 18 a 27 ° C, manifestado simultaneamente com o aparecimento das colônias (GUILLLOT, et al., 2001).

O aparecimento do quadro clínico dos animais deste estudo com dermatofitose, relatados pelos proprietários, foi rápido em 75,0% dos casos, variando entre uma a quatro semanas.

Entre os caninos a raça Yorkshire teve incidência de 42,2% e a raça Persa de 60,0%, entre os felinos. Outros autores também verificaram maior prevalência de dermatofitose, estadudinense, italianos e brasileiros, em Yorkshires e Persas (SCOTT et al., 2001; ABRAMO et al., 2001; BALDA et al., 2004; MORIELLO e NEWBURY, 2006).

Animais jovens, especialmente aqueles com idade de até 12 meses mostraram, neste estudo, maior susceptibilidade para desenvolver dermatofitose, corroborando dados de outros autores (BALDA, et al., 2004; CAFARQUIA, et al., 2004).

O exame com a Lâmpada de Wood demonstrou ser uma ferramenta de extrema importância como procedimento de triagem na dermatofitose. Porcentagem de positividade de 70,8% obtida, ao exame de fluorescência, com a lâmpada de Wood, nos animais com dermatofitose, foi superior aquele de outros autores, que relataram que a sensibilidade não ultrapassa os 50% (SCOTT et al., 2001; PEANO et al., 2005; MORIELLO e NEWBURY, 2006).

Com relação à ocorrência feita ao comprimento do pelame e sexo não houve diferença significativa entre os animais pesquisados, dado semelhante foi obtido em outro estudo (BALDA et al., 2004).

Em relação à transmissão interespecie, verificou-se que houve 20,8% dos casos com infecção concomitante dos proprietários dos animais com dermatofitose,

dados muito semelhantes são descritos por outros autores (MANCIANTI et al., 2003; BALDA et al., 2004).

A presença de prurido foi considerada de alta intensidade em apenas 12,5% dos casos deste estudo. De fato este dado é corroborado por outros autores (BALDA, et al., 2004; CAFARQUIA, et al., 2004).

A maioria dos animais (79,6%) tomava banhos com frequência que variava de uma a quatro semanas, sendo que 68,4% destes eram banhados em pet shop.

Quanto à sazonalidade houve uma marcante predileção pelos meses de outono e especialmente pelo inverno com 45,83% de todos os casos positivos para dermatofitose, valor semelhante foi relatado por (CAFARQUIA, et al., 2006), e que diferem de vários autores (LARSSON, et al, 1997; BRILHANTE et al., 2003; CAFARQUIA, et al, 2004; BALDA, et al., 2004). As diferenças climáticas e o número de casos das várias regiões onde estes estudos foram realizados podem interferir nesta discordância.

Na apresentação das lesões de dermatofitose houve predomínio no crânio, membros e tronco, sendo que alopecia e crostas foram verificadas em 100% dos animais, achados estes semelhantes aqueles descritos por (BALDA, et al, 2004). A alopecia anular foi verificada em 83,33% dos casos coadunando com SCOTT, et al., 2001; BALDA et al., 2004.

O exame micológico direto foi mais sensível com KOH 20% (58,3%) do que com óleo mineral (50%), embora valores semelhantes estejam descritos na literatura (BRILHANTE, 2003; MONZÓN de la TORRE, 2003).

Com base na análise estatística constatamos a ausência de diferença ($p < 0,05$) entre as técnicas de coloração, e diferença estatística entre as colorações e os exames diretos dos pelos ($p > 0,05$), para animais positivos para dermatofitose.

A técnica de coloração dos pelos com dermatofitose, descrita neste estudo foi sensível na detecção de esporos de dermatófitos. Os esporos fúngicos corados tiveram uma porção externa menos corada, sugerindo que possa ser uma cápsula. Esta suposta cápsula pode ser responsável pela “alta resistência dos dermatófitos a desinfetantes no ambiente” (MORIELLO e VERBRUGGE, 2007).

A coloração dos pelos com *M. canis* mostrou que há centenas de esporos na maioria dos pelos contaminados e normalmente há muitos pelos contaminados nas amostras colhidas.

Ao observar os pelos corados ao microscópio em 100 aumentos, notaram-se que os pelos infectados estão deformados e com impregnação do corante. Em alguns casos, em 100 aumentos, a impregnação do corante não significou a presença de esporos. Deste modo, é essencial para o diagnóstico dos pelos com dermatofitose, a visualização dos esporos nos pelos em 1000 aumentos.

Os esporos corados são visualizados a partir de 400 aumentos, mas eles são melhor identificados em 1000 aumentos. O examinador deve iniciar a leitura da lâmina com 100 aumentos e identificar aquele pelo corado e disforme, desta maneira, os pelos sugeridos devem ser analisados em 400 e 1000 aumentos para identificar a presença dos esporos.

A coloração de PAS 95,8%, e foi a mais sensível de todas e os esporos e hifas com este corante são corados com uma cor eosinofílica leve a intensa. As colorações de Rosenfeld e Wright coraram os esporos e hifas em azul.

Quando aparecerem poucos esporos, maiores e corados somente na coloração de PAS, pode-se suspeitar de infecção por *M. gypseum*. Neste estudo observaram-se este agente corado somente por este corante, com poucos esporos e hifas identificados no exame.

Sugerimos que a cultura micótica deverá ser realizada em todos os casos positivos na coloração, pois somente a cultura irá isolar e identificar o agente etiológico.

5 CONCLUSÃO

A identificação dos esporos fúngicos de dermatofitose pelas técnicas de coloração é fácil, rápida e não exige muita experiência. Embora a coloração de PAS tenha obtido sensibilidade de 95,8%, ambas as colorações podem ser realizadas no momento da consulta. A utilização da técnica de coloração dos pelos permite antecipar um resultado positivo para dermatofitose na cultura fúngica e iniciar a terapia antifúngica imediatamente.

REFERÊNCIAS

- ABRAMO, F.; VERCELLI, A.; MANCIANTI, F. Case Report. Two cases of dermatophytic pseudomycetoma in the dog: an immunohistochemical study. **Veterinary Dermatology**. v. 12. P. 203-207, 2001.
- ARABATZIS, M.; BRUIJNESTEIJN VAN COPPENRAET, L.L.S.; KUIJPER, E.J.; DE HOOG, G.S.; LAVRIJSEN, A.P.M.; TEMPLENTON, K.; VAN DER RAAIJ-HELMER, E.M.H.; VELEGRAKI, A.; GRÄSER, Y.; SUMMEBELL, R.C. Diagnosis of common dermatophyte infections by a novel multiplex real-time polymerase chain reaction detection/identification scheme. **British Journal of Dermatology**. p. 1-7, 2007.
- BALDA, A.C.; LARSSON, C.E.; OTSUKA, M.; GAMBALE, V. Estudo retrospectivo de casuística das dermatofitoses em cães e gatos atendidos no Serviço de Dermatologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. **Acta Scientiae Veterinariae**. v. 32(2), p. 133-140, 2004.
- BERNARDO, R.; LANÇA, A.; GUERRA, M.M.; MARINA MARTINS, H. Dermatophytes isolated from pet, dogs and cats, in Lisbon, Portugal (2000-2004). **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**. v. 100, p. 85-88, 2005.
- BRAJAC, I.; STOJNIC-SOSA, L.; PRPIC, L.; LONCAREK, K.; GRUBER, F. The epidemiology of *Microsporum canis* infections in Rijeka area, Croatia. **Mycoses**. v. 47, 222-226, 2004.
- BRASIL, K.W.; PINHEIRO, R.L.; PIMENTEL, I.C. Diagnóstico laboratorial de micoses superficiais e cutâneas: comparação dos métodos do hidróxido de potássio e do *Calcofluor White*. **Anais Brasileiros de Dermatologia**. v. 78(5), p. 547-551, 2003.
- BRILHANTE, R.S.N.; CAVALCANTE, C.S.P.; SOARES-JUNIOR, F.A.; CORDEIRO, R.A.; SIDRIN, J.J.C.; ROCHA, M.F.G. High rate of *Microsporum canis* feline and canine dermatophytoses in Northeast Brazil: Epidemiological and diagnostic features. **Mycopatologia**. v. 156, p. 303-308, 2003.
- CAFARCHIA, C.; ROMITO, D.; SASANELLI, M.; LIA, R.; CAPELLI, G.; OTRANTO, D. The epidemiology of canine and feline dermatophytoses in southern Italy. **Mycoses**. v. 47, p. 508-513, 2004.
- CAFARCHIA, C.; ROMITO, D.; CAPELLI, G.; GUILLOT, J.; OTRANTO, D. Isolation of *Microsporum canis* from the hair coat of pet dogs and cats belonging to owners diagnosed with *M. canis* tinea corporis. **Veterinary Dermatology**. v. 17, p. 327-331, 2006.
- FOUST, A.L.; MARSELLA, R.; AKUCEWICH, L.H.; KUNKLE, G.; STERN, A.; MOATTARI, S.; SZABO, N. J. Evaluation of persistence of terbinafine in the hair of normal cats after 14 days of daily therapy. **Veterinary Dermatology**. v. 18, p. 246-251, 2007.

GUILLOT, J.; LATIÉ, L.; DEVILLE, M.; HALOS, L.; CHERMETTE, R. Evaluation of the dermatophyte test medium RapidVet-D. **Veterinary Dermatology**. v.12, p.123-127, 2001.

KAUFMAN, G.; HORWITZ, B. A.; HADAR, R.; ULLMAN, Y.; BERDICEVSKY, I. Green fluorescent protein (GFP) as a vital marker for pathogenic development of the dermatophyte *Trichophyton mentagrophytes*. **Microbiology**. v. 150, p. 2785-2790, 2004.

LARSSON, C.E.; LUCAS, R.; GERMANO, P.M.L. Dermatofitoses de cães e gatos em São Paulo: estudo da possível influência sazonal. **Anais Brasileiros de Dermatologia**. v. 72, p. 139-142, 1997.

MANCIANTI, F.; NARDONI, S.; CORAZZA, M.; ACHILLE, P.D'; PONTICELLI, C. Environmental detection of *Microsporum canis* arthrospores in the households of infected cats and dogs. **Journal of Feline Medicine and Surgery**. v. 5, p. 323-328, 2003.

MAZÓN, A.; SALVO, S.; VIVES, R.; VALCAYO, A.; SABALZA, M.A. Estudio etiológico y epidemiológico de las dermatofitosis en Navarra (España). **Revista Iberoamericana de Micología**. V. 14, p. 65-68, 1997.

MONZÓN DE LA TORRE, A.; CUENCA-ESTRELLA, M.; RODRIGUEZ-TUDELA, J.L. Estudio epidemiológico sobre las dermatofitosis en España (abril-junio 2001). **Enfermedade Infecciosa de Microbiologia Clínica**. v. 21(9), p. 477-483, 2003.

MORIELO, K.A. Diagnostic Techniques for Dermatophytosis. **Clinical techniques in Small Animal Practice**. v. 16, p. 219-224, 2001.

MORIELO, K.A. Treatment of dermatophytosis in dogs and cats: review of published studies. **Veterinary Dermatology**. v. 15, p. 99-107, 2004.

MORIELO, K.A.; DEBOER, D.J.; VOLK, L.M.; SPARKES, A.; ROBINSON, A. Development of an *in vitro*, isolated, infected spore testing model for disinfectant testing of *Microsporum canis* isolates. **Veterinary Dermatology**. v. 15, p. 175-180, 2004.

MORIELLO, K.A.; NEWBURY, S.N. Recommendations for the Management and Treatment of Dermatophytosis in Animal Shelters. **Veterinary Clinics Small Animal Practice**. Elsevier Saunders. 2006.

MORIELO, K.A.; VERBRUGGE, M. Use of isolated spores to determine the sporocidal efficacy of two commercial antifungal rinses against *Microsporum canis*. **Veterinary Dermatology**. v. 18, p. 55-58, 2007.

NEWBURY, S.; MORIELLO, K.; VERBRUGGE, M.; THOMAS, C. Use of lime sulphur and itraconazole to treat shelter cats naturally infected with *Microsporum canis* in an annex facility: an open field trial. **Veterinary Dermatology**. v.18, p.324-331, 2007.

PEANO, A.; RAMBOZZI, L.; GALLO, M. Development of an enzyme-linked immunosorbant assay (ELISA) for the serodiagnosis of canine dermatophytosis caused by *Microsporum canis*. **Veterinary Dermatology**. v. 16, p. 102-107, 2005.

ROBERT, R.; PIHET, M. Conventional Methods for the Diagnosis of Dermatophytosis. **Mycopathologia**. v. 166, p. 295-306, 2008.

SEEBACHER, C.; BOUCHARA, J. F.; MIGNON, B. Updates on the Epidemiology of Dermatophyte Infections. **Mycopathologia**. v. 166, p. 335-352, 2008.

SCOTT, D.W.; MILLER, W.H. GRIFFIN, C. E. **Muller and Kirk's Small Animal Dermatology**. 6th ed. Philadelphia: Saunders, 2001.1528p.

TAPLIN, D.; ZAIAS, N.; Rebell, G.; Blank, H. Isolation and recognition of dermatophytes on a new medium (DTM). **Archives Dermatology**. v. 99, p. 203–209, 1969.

VIANI, F. C.; VIANI, P. R. C.; RIVERA, I. N. G.; da SILVA, E. G.; PAULA, C. R.; GAMBALE, V. Extracelular proteolytic activity and molecular analysis of *Microsporum canis* strains isolated from symptomatic and asymptomatic cats. **Revista Iberoamericana de Micologia**. V. 24, p. 19-23, 2007.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A dermatofitose em pequenos animais tem sua incidência baixa na rotina de um consultório veterinário, contudo vemos que uma grande porcentagem dos animais consultados com dermatopatias tem como prescrição um antifúngico. As características clínicas desta dermatopatia têm similaridade com muitas outras e por isto há um exagero de diagnóstico de dermatofitose. Outro fator importante neste diagnóstico equivocado é que o diagnóstico é difícil, pois exige um cultivo micológico para definir com precisão o agente causador.

A cultura micótica exige um aporte laboratorial especializado o que nem sempre está acessível ao clínico veterinário, principalmente longe dos grandes centros urbanos. Uma alternativa está em o próprio médico veterinário realizar seu cultivo micológico por meio de um exame denominado DTM (Agar seletivo para dermatófitos), neste meio o clínico coloca as amostras de pelos e escamas e incuba no próprio consultório, e em aproximadamente cinco dias, se tiver dermatófitos haverá mudança de cor do amarelo para vermelho. É muito importante que a avaliação seja diária para esta mudança de cor, pois fungos saprófitas demoram mais que 15 dias para alcalinizar o meio e é a alcalinização que irá mudar a coloração do Agar. Os dermatófitos utilizam as proteínas para seu desenvolvimento e alcalinizam o meio rapidamente induzindo neste caso a mudança de cor do meio.

Uma vez observado a rápida mudança de cor é necessário realizar a análise das colônias para verificar qual dermatófito foi cultivado. A caracterização dos micro e macroconídeos indicará o dermatófito em questão. Uma observação deve ser ressaltada na identificação dos dermatófitos é que o *Microsporum gypseum* produz rapidamente os macroconídeos, quase tão rapidamente quando da mudança de cor,

já o *Microsporum canis* demora um pouco mais e é necessário repetir por vários dias o exame citológico até identificá-lo. Esta prática exige empenho e persistência ainda mais que os casos são raros e necessitamos de muitos casos tanto negativos como os positivos para em fim dominarmos esta técnica de diagnóstico, contudo ela é perfeitamente possível de realizarmos no consultório e nos garante um diagnóstico preciso e precioso na dermatofitose.

A utilização da Lâmpada de Wood mostrou-se eficaz principalmente nos felinos onde obtivemos 100% de positividade, então ela deve ser utilizada na triagem de animais suspeitos sempre que possível.

A coloração dos pelos com corantes apresentada neste trabalho, é de fácil realização com corantes como Rosenfeld e Wright para identificação de animais infectados com dermatofitose e tornam a tarefa mais fácil para o clínico, e nos casos positivo o veterinário poderá iniciar a terapia antifúngica precocemente e encaminhar o material para a cultura ou realizar no consultório com DTM. Atenção deve ser dada a uma coloração negativa com estes corantes visto que o *M. gypseum* foi somente observado com a coloração de PAS (ácido periódico de Schiff), sendo este corante mais sensível que os demais para o diagnóstico de dermatofitose.

PERSPECTIVAS

A utilização de PCR (cadeia de polimerase reativa) poderá ser em breve uma alternativa na rotina de diagnóstico da dermatofitose, contudo seu alto custo ainda não disponibiliza seu uso na atual prática diária. Alternativas incluem ELISA e outras colorações para fungos ainda não testadas.